











Handbuch

der

Biochemischen Arbeitsmethoden.

VI. Band.

HANDBUCH

DER

BIOCHEMISCHEN ARBEITSMETHODEN.

BEARBEITET VON

Prof. Dr. **E. Abderhalden,** Halle a. S. — Prof. Dr. **L. Baumann,** Jowa City — Prof. Dr. **A. Carrel,** New-York — Prof. Dr. **O. Cohnheim,** Heidelberg — Dr. **J. M. O'Connor,** Heidelberg — Dr. **H. Deetjen,** Heidelberg — Prof. Dr. **O. Emmerling,** Berlin — Priv.-Doz. Dr. **F. Fischler,** Heidelberg — Dr. **G. Giemsa,** Hamburg — Geh. Rat Prof. Dr. **R. Gottlieb,** Heidelberg — Priv.-Doz. Dr. **V. Grafe,** Wien — Prof. Dr. **J. Grüß,** Berlin — Dr. **R. Hanslian,** Halle a. S. — Prof. Dr. **W. Heubner,** Göttingen — Prof. Dr. **H. Hildebrandt,** Halle a. S. — Dr. **H. Jessen-Hansen,** Kopenhagen — Dr. **R. Kempf,** Berlin — Dr. **A. Ed. Lampé,** Halle a. S. — Prof. Dr. **A. Lohmann,** Marburg — Priv.-Doz. Dr. **M. Nierenstein,** Bristol — Dr. **O. Schumm,** Hamburg — Dr. **D. van Slyke,** New-York — Priv.-Doz. Dr. **R. von den Velden,** Düsseldorf — Priv.-Doz. Dr. **W. Völtz,** Berlin — Dr. **V. Vouk,** Wien — Prof. Dr. **J. Wohlgemuth,** Berlin — Priv.-Doz. Dr. **G. Zemplén,** Selmeczbánya — Priv.-Doz. Dr. **E. Zunz,** Brüssel

HERAUSGEGEBEN VON

PROF. DR. EMIL ABDERHALDEN,

DIREKTOR DES PHYSIOLOGISCHEN INSTITUTES DER UNIVERSITÄT HALLE A. S.

SECHSTER BAND.

MIT 335 TEXTABBILDUNGEN UND EINER FARBIGEN TAFEL.

URBAN & SCHWARZENBERG

BERLIN — N., FRIEDRICHSTRASSE 105b

WIEN — I., MAXIMILIANSTRASSE 4

1912.

Vorwort.

Der mit chemischen Methoden bearbeitete Teil der Biologie erweitert sich von Jahr zu Jahr. Immer mehr Hilfsmittel werden herangezogen und Fragestellungen aufgeworfen und beantwortet, die noch vor kurzer Zeit einer Lösung unzugänglich waren. Überall gibt die Methodik den Fortschritten unserer Erkenntnis auf dem gesamten Gebiete der Naturwissenschaften und speziell der Biologie ein bestimmtes Gepräge. Je exakter die Methodik, um so sicherer ist auch die Deutung der Befunde, um so dauerhafter fügt sich ein neues Resultat in die Summe unserer Kenntnisse ein. Es dürfte nur wenige Methoden geben, die unter allen Umständen brauchbare Resultate liefern. In den meisten Fällen liegt eine Hauptaufgabe des Forschers in der richtigen Auswahl der im speziellen Falle verwendbaren Methode. Er muß genau über deren Fehlerquellen orientiert sein, und vor allem muß er wissen, ob eine bestimmte Fragestellung mit den zurzeit zur Verfügung stehenden Methoden auch lösbar ist. Zahlreiche Probleme erhalten sicher nur deshalb so verschiedenartige Beantwortungen, weil vorläufig die einwandfreien Methoden fehlen. Hier heißt es, die gestellten Fragestellungen zurückstellen, bis die Methodik weitere Fortschritte gezeitigt hat.

Dieser neue Band der biochemischen Arbeitsmethoden trägt den Fortschritten der Methodik auf verschiedenen Gebieten der Biologie Rechnung. Die Ergänzungen sind im allgemeinen absichtlich so gehalten, daß sie ein abgeschlossenes Ganzes darstellen. Dadurch waren Wiederholungen unvermeidlich. Dieser Nachteil wird sicherlich reichlich durch den Umstand aufgehoben, daß nach den gegebenen Vorschriften ohne zeitraubendes Nachschlagen gearbeitet werden kann. Außer Ergänzungen bringt der neue Band mehrere neue Gebiete. Vor allen Dingen ist die Pflanzenbiologie stärker berücksichtigt worden. Ferner sind auch dieses Mal Methoden aufgenommen worden, die an und für sich keine chemischen sind, jedoch

in engster Beziehung zu solchen stehen. Soll ein derartiges Werk ein wirkliches Hilfsmittel im Laboratorium werden, dann darf es die Grenzen nicht zu eng ziehen. Manche Forschung kommt zum Stillstand, weil Methoden fehlen, um das gestellte Problem nach mehreren Richtungen zu ergründen. Jeder einzelne beherrscht, je nach seiner Ausbildung, immer nur eine bestimmte Anzahl von Methoden. Solche, die ihm ferner liegen, wagt er nicht anzuwenden, weil er nicht zu beurteilen vermag, welche Methode von den vorhandenen, vielfach modifizierten, nun die beste ist. Hier soll das Handbuch helfend eingreifen und Methoden vermitteln, die sich bewährt haben.

Das Handbuch wird, soll es dauernd seine Aufgabe erfüllen, fortlaufend in bestimmten Zeitabschnitten erscheinen müssen. Ein weiterer Band, der im Herbst des folgenden Jahres erscheinen soll, ist bereits in Druck. Der Zweck des Werkes würde vollkommener erreicht werden, wenn die verschiedenen Forscher mich auf Lücken und Mängel aufmerksam machen würden. Sehr willkommen wären mir auch kleine Mitteilungen über praktische Einrichtungen, besondere Kunstgriffe bei bestimmten Methoden usw. Jedes Laboratorium verfügt über Erfahrungen, die es wert wären, mitgeteilt zu werden.

Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich den Herren Verfassern der einzelnen Kapitel meinen herzlichsten Dank für ihre Mitarbeit ausspreche. Herrn Dr. phil. Kautzsch, meinem langjährigen Assistenten, verdanke ich die Übersetzung der fremdsprachlichen Beiträge.

Halle a. S., 6. Dezember 1912.

Emil Abderhalden.

Inhaltsverzeichnis.

Darstellung, Gewinnung, Nachweis und Bestimmung der höheren Kohlenhydrate.

Von Géza Zemplén, Selmeczbánya.

Stärke.

Reinigung der Handelsstärke.[1])

Die Eigenschaften der Stärke werden wesentlich verändert durch die Gegenwart von kleinen Mengen mineralischer Bestandteile. Bei wissenschaftlichen Untersuchungen muß man demnach oft darauf achten, möglichst reines Material zu verwenden. Behandelt man die reinste Stärke mit verschiedenen Reagenzien, so enthalten die natürlichen Stärkekörner noch immer einige Tausendstel Asche, die aus Phosphaten der Metalle der alkalischen Erden und aus Kieselsäure besteht. — Das nachfolgende Verfahren zur Demineralisierung der Stärke beruht auf der Gefrierung der löslich gemachten Stärke.

Man bereitet einen möglichst homogenen 1%igen Stärkekleister aus reinster Kartoffelstärke und aus reinem Wasser (elektrisches Leitvermögen $K = 1 \times 10^{-6}$) in einem großen Porzellangefäß. Nach 2—3stündigem Erhitzen des Kleisters auf 130° im Autoklaven dekantiert man vorsichtig die abgekühlte opalisierende Flüssigkeit, ohne den geringen, sandigen Bodensatz aufzurühren, in eine Form aus reinem Nickel und läßt die Flüssigkeit erfrieren. Schmilzt man jetzt die Masse, so enthält die klare Flüssigkeit den allergrößten Teil der Mineralsubstanzen neben wenig Stärke, und der Bodensatz besteht aus Flocken, die durch Filtration oder Zentrifugieren von der Flüssigkeit befreit werden. Man löst den Rückstand wieder in reinem Wasser und wiederholt das Gefrierenlassen und Auftauen noch drei- bis fünfmal mit dem einzigen Unterschied, daß bei den letzteren Behandlungen die Auflösung der Stärke nur im Wasserbade und nicht unter Druck im Autoklaven erfolgt. Die nach dem Auftauen in Lösung gebliebene Stärkemenge nimmt nach jeder Operation rasch ab in dem Maße, als die Mineralsubstanzen entfernt werden. Ein Stärkekleister, der

[1]) *G. Malfitano* und *A. N. Moschkoff*, Sur la purification de l'amidon. Comptes rendus. **151**. 817—819 (1910). Sur la coagulation de la matière amylacée par congélation. Comptes rendus. **150**. 710—711 (1910).

im Liter 10·2 *g* Trockensubstanz mit einem Aschegehalt von 0·036 *g* enthält, gibt nach einmaliger Behandlung eine Flüssigkeit mit 0·9 *g* Trockensubstanz und 0·029 *g* Asche im Liter. Bei den nachfolgenden Behandlungen beträgt die Flüssigkeit 0·2, 0·05, 0·02, endlich 0·01 *g* Trockensubstanz im Liter, und der Aschegehalt kann nur mit Hilfe von elektrischen Leitfähigkeitsmessungen ermittelt werden. Vor der Anwendung des Gefrierverfahrens ist die elektrische Leitfähigkeit der Stärkelösung $K = 53 \times 10^{-6}$, nach der zweiten Behandlung $K = 10 \times 10^{-6}$ und nach mehrmaliger Behandlung $K = 4 \times 10^{-6}$. Letzterer Wert ist die Grenze, die man nicht mehr überschreiten kann und die dem unter gleichen Bedingungen behandelten reinen Wasser entspricht. Die Flüssigkeit gibt schon nach zweimaliger Behandlung nur eine geringe violette Färbung mit Jod, die den durch das Erhitzen gebildeten Dextrinen zuzuschreiben ist. Letztere werden aus dem Rückstande durch Waschen mit kaltem Wasser entfernt, dann wird das Produkt zunächst bei gewöhnlicher Temperatur, dann bei 125° getrocknet. 10 *g* der so erhaltenen sehr weißen, faserigen Substanz ergeben beim Veraschen eine Aschenmenge, die weniger als 2 *mg* beträgt.

Für die beschriebene Reinigung eignet sich am besten Kartoffelstärke, indem sie die höchsten Ausbeuten liefert, doch können der gleichen Behandlung die übrigen Stärkesorten ebenfalls mit Erfolg unterworfen werden.

Die Ausbeuten sind desto höher und die Filtration der Produkte erfolgt desto leichter, je weniger Mineralsubstanzen die Stärke enthält. Bei Anwendung von möglichst reiner Kartoffelstärke ist die Ausbeute nach der beschriebenen Methode ungefähr 90% des Ausgangsmaterials. Erfolgt die Verflüssigung des Kleisters in einem Jenenser Kolben, so fällt die Ausbeute auf 75% und kann bis auf 50% sinken, wenn man weniger sorgfältig arbeitet. Dagegen kann man die Ausbeute auf etwa 94% erhöhen, wenn man die Stärke vor der Behandlung der Einwirkung von $^1/_{10}$ n-Salzsäure aussetzt, die etwa die Hälfte der vorhandenen Mineralsubstanzen herauslöst.

Qualitativer Nachweis der Stärke.

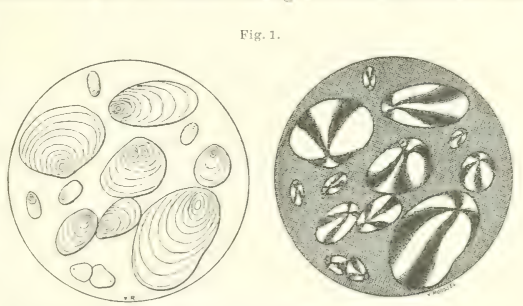
Die Stärke kommt meistens in Form charakteristisch ausgebildeter Körner vor, so daß die mikroskopische Untersuchung oft zur Erkennung der Stärke dienen kann. Erleichtert wird der Nachweis unter gekreuzten Nicols, wobei ein schwarzes orthogonales Kreuz erscheint, dessen Mittelpunkt mit dem sogenannten Kern der Körner zusammenfällt und dessen Arme mit den Schwingungsrichtungen des Nicols zusammenfallen (Fig. 1).

Verhalten gegen Jodlösung. Mit Jodlösungen gibt die Stärke eine charakteristische indigoblaue Färbung, welche beim Erwärmen verschwindet, beim Abkühlen der Flüssigkeit wieder auftritt. Nach längerem Erwärmen kehrt die blaue Farbe nicht mehr wieder. Alkalien, arsenige Säure, schweflige Säure, Natriumthiosulfat, Alkohol, Chloroform, viel Chloralhydrat, Tannin, viele Phenole, Proteine, arabischer Gummi und gekochter Malzextrakt stören die Reaktion.

Bestimmung der Stärke.

Bis jetzt ist noch keine Methode bekannt, die in sämtlichen Fällen zu einer genauen Bestimmung der Stärke führen könnte. Die nach verschiedenen Methoden erhaltenen Werte weichen voneinander oft erheblich ab, dagegen erreicht man beim Arbeiten nach derselben Methode eine genügende Genauigkeit. Bei Veröffentlichung von Stärkebestimmungen ist demnach das Verfahren stets mitzuteilen. Die erwähnten Differenzen rühren hauptsächlich von den bei der Aufschließung der stärkeführenden Substanz in Lösung gehenden Pentosanen her. Nach Abzug der letzteren aus den nach verschiedenen Methoden erhaltenen Rohstärkewerten ergeben sich verhältnismäßig weniger differenzierende korrigierte Stärkewerte.[1]) Die polarimetrische Stärkebestimmungsmethode eignet sich wegen der raschen Ausführung hauptsächlich darum zur Ermittlung des Stärkegehaltes, da dabei die Gegenwart von Pentosanen weniger stört, indem das Drehungsvermögen der letzteren im Vergleich zu demselben der Stärke sehr gering ist.

Fig. 1.



Kartoffelstärke in natürlichem Lichte. Kartoffelstärke in polarisiertem Lichte.

Die folgende tabellarische Übersicht soll zur allgemeinen Orientierung unter den verschiedenen Stärkebestimmungsmethoden dienen. Die empfehlenswerteren Methoden sind nachher ausführlich beschrieben.

A. Indirekte Bestimmungsmethoden.

Dabei wird die Stärke zur Glukose hydrolysiert und der Stärkegehalt aus der gebildeten Glukosemenge berechnet. Als Beispiel soll das Verfahren von *Maercker* beschrieben werden.

Bestimmung der Stärke nach vorhergehender Aufschließung mittelst Diastase.[2])

(Methode von *Maerker*, Nr. 3 der Tabelle.)

3 *g* der lufttrockenen Substanz werden mit 100 *cm*³ Wasser ½ Stunde gekocht, auf 65° abgekühlt und mit 10 *cm*³ Normalmalzauszug versetzt.

[1]) *C. J. Lintner,* Über die Bestimmung des Stärkemehlgehaltes in Zerealien. Zeitschr. f. angewandte Chemie. **11.** 725—729 (1898).

[2]) *Max Maerker* und *Max Delbrück,* Handbuch der Spiritusfabrikation. 9. Aufl. 1908. S. 165.

Übersicht der wichtigsten Stärkebestimmungsmethoden nach *F. Schubert.*[1])

Das der Bestimmung zugrundegelegte Endprodukt		Methode	Vorbehandlung	Inversion
Glukose a) Bestimmung nach Reduktionsmethode	Die drei empfohlenen Methoden der „Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung von Nahrungs- u. Genußmitteln usw. für das Deutsche Reich“, 1897. H. 1. S. 14 u. 15	1. Hochdruckmethode.	3 bis 4 Stunden bei 3 Atmosphären oder 8 Stunden im *Reischauer-Lintner*schen Druckfläschchen	Mit 2·27°/₀iger Salzsäure 3 Stunden (200 cm^3 Wasser, 20 cm^3 Salzsäure, sp. G. 1·1)
		2. Methode *Maercker-Morgen* unter Anwendung von Diastase und Hochdruck.	Verkleisterung, diastatische Verflüssigung, sodann $1/2$ Stunde bei 3 Atmosphären mit 0·1%iger Weinsäure, abermals diastatische Verzuckerung	Mit 1·87%iger Salzsäure (200 cm^3 Wasser, 15 cm^3 Salzsäure, spez. Gew. 1·125). 3 Stunden im kochenden Wasserbade
		3. Diastatische Methode (*M. Maercker*).	Halbstündige Verkleisterung, zweimalige Behandlung mit Malzextrakt, mit dazwischen vorgenommenem Kochen	Mit 2·27%iger Salzsäure (100 cm^3 Wasser, 10 cm^3 Salzsäure). 3 Stunden im kochenden Wasserbade
		4. Methode von *Reinke*. *Maercker-Delbrücks* Handbuch. 1908. S. 163.	$2^1/_2$ Stunden bei $3^1/_2$ Atmosphären in Gegenwart von Milchsäure (nach *Wiley* Salizylsäure)	Mit 1·87%iger Salzsäure, $2^1/_2$ Stunden im kochenden Wasserbade
		5. *Lintners* Stärkepentosanmethode. Über die Bestimmung des Stärkegehaltes in Zerealien. Zeitschr. f. angewandte Chemie. **11**. 725 (1898).	Ohne Vorbehandlung	Inversion mit Pentosanbestimmung im Abbauprodukte
		6. *L. Lindet*, Abänderung der unter 17 angeführten Methode. Journal f. Pharm. u. Chem. **14**. 347—400 (1901).	Vorbehandlung wie oben (siehe unter 17)	Säureinversion
		7. *O. Lietz*, Abänderung des Verfahrens von *Mayrhofer*. Über Stärkebestimmungen. Berichte d. Deutschen pharmaz. Gesellsch. **12**. 153—166 (1902).	Vorbehandlung nach *Mayrhofer*	Säureinversion
b) polarimetrische Bestimmung		8. *Gschwendner*, Stärkeabbau durch Osmose und Hydrolyse unter erhöhter Temperatur. Chemikerztg. **30**. 761—763 (1906).	Ohne Vorbehandlung	Mit ca. 3%iger Salzsäure, 20% Kochsalz $1^1/_4$ St. i. koch. Wasserb.
		9. *Parow-Neumann*, Beitrag zur Bestimmung des Stärkestoffes in Handelsstärken und stärkehaltigen Produkten. Zeitschr. f. Spiritusindustrie. **30**. 561—562 (1907).	Ohne Vorbehandlung	Mit ca. 2·5%iger Salzsäure und 20% Kochsalz 1 Stunde im kochenden Wasserbade
		10. *Schubert*, Zersetzungsfreie Verzuckerung der Stärke und ihre Anwendung zur polarimetrischen Bestimmung der Stärke in der Gerste. Österr.-ung. Zeitschr. f. Zuckerindustrie und Landwirtschaft. **38**. 17—31 (1909).	Ohne Vorbehandlung	Mit 1%iger Salzsäure und 10% Kochsalz 5 Stunden im kochenden Wasserbade
„Lösliche Stärke“ polarimetrisch		11. *Lintner*, Über die Bestimmung des Stärkegehaltes der Gerste durch Polarisation. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. **30**. 109—111 (1907). — Über die Bestimmung des Stärkegehaltes in Zerealien durch Polarisation. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. **14**. 205—208 (1907). — Über polarimetrische Stärkebestimmung. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. **16**. 509—512 (1908).	Ohne Vorbehandlung	Mit starker Salzsäure; kalte Behandlung während einer halben Stunde

	12. *O. Wenglein*, Zur Bestimmung des Stärkegehaltes in Gersten durch Polarisation. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. **31**. 53—56 (1908). — Die Beziehungen des Stärkegehaltes der Gerste zu deren Prozentgehalt und Korngröße. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. **31**. 257—261 (1908).	Ohne Vorbehandlung	Kalte Behandlung mit starker Schwefelsäure
	13. *Ewers*, Über Bestimmung des Stärkegehaltes auf polarimetrischem Wege. Zeitschr. f. öffentl. Chemie. **14**. 8—19 (1908); **14**. 150—157 (1908). Über polarimetrische Stärkebestimmung. **15**. 8—14 (1909).	Ohne Vorbehandlung	5 *g* Substanz (für Kartoffel 10 *g*) werden mit 50 cm^3 Salzsäure von 1,124% genau 15 Minuten im kochenden Wasserbade erhitzt, zu 100 cm^3 aufgefüllt usw. u. polaris.
	14. *Mayrhofer*, Bestimmung der Stärke in Fleischwaren. Forschungsberichte über Lebensmittel. **1896**. Ebenda. Bd. **3**. S. 141 u. 429.	Mit 8%iger Kalilauge am Wasserbade	Fällung durch Ansäuren mit Essigsäure und Zusatz von Alkohol
	15. *G. Baumert* und *H. Bode*, Zur Bestimmung des wahren Stärkegehaltes der Kartoffeln. Zeitschr. f. angew. Chemie. **1900**. 1074—1078; 1111—1113.	3½ Stunden bei 3 Atmosphären	Lösung mit wässeriger Kalilauge, Ausfällen mit Alkohol und Waschen mit alkoholischer Salzsäure
Stärke gewichtsanal.	16. *G. Baumert*, Zur gewichtsanalytischen direkten Stärkebestimmung nach dem Verfahren von *G. Baumert* und *H. Bode*. Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel. **18**. 167—168 (1909).	Lösung mit Salzsäure nach *Lintner* (11) statt des Hochdruckes	
	17. *A. Kaiser*, Die quantitative Bestimmung der Kartoffelstärke (Granulose). Chemiker-Ztg. **26**. 180 (1902).	Verkleisterung und Ausfällung der Jodstärke in Gegenwart von essigsaurem Natrium	
	18. *Lindet*, Bestimmung der Stärke in den Getreidekörnern. Bull. Soc. Chim. Paris. [3]. **15**. 1163—1164 (1896).	Lösen des die Stärkekörner umgebenden Glutens durch Pepsinlösung und Auspressen durch Seide	
Als Verbdg. d. Stärke. *a)* mit Baryt titrimetr.,	19. *A. Asbóth*, Neue Methode zur quantitativen Bestimmung der Stärke. Rep. anal. Chem. **7**. 299—308 (1887). Zur quantitativen Bestimmung der Stärke. Chemiker-Ztg. **11**. 785—786 (1887).	Halbstündige Verkleisterung. Zusatz von Baryt und Alkohol, Rücktitration des Baryts	
b) mit Jod kolorimetrisch	20. *M. Dennstedt* und *F. Voigtländer*, Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung der Stärke. Forschungsber. über Lebensmittel und ihre Bez. z. Hygiene etc. **2**. 173—176 (1895).		
Alkohol	21. *Delbrück-Munsche*, *Maerker-Delbrücks* Handbuch. 1908. S. 168.	Vergärung mit Hefezusatz	
	22. *Boidin*, 1906. Ebenda. S. 170.	Vergärung mittels des beim Amyloverfahren verwendeten Pilzes	
Stärke als Rest	23. *Baudry*, Stärkebestimmung im Mehl. Zeitschr. f. angewandte Chemie. **11**. 247 (1898).	Nur jener Teil der Handelsstärke ist als Stärke anzusehen, der durch Erwärmen in Salizylsäurelösung (4 *g* im Liter) löslich ist. (Am 2. internationalen Kongreß f. angew. Chem. angenommen.)	
Refraktometrische Bestimmungen	24. *A. Frank-Kamenitzky*, Eine neue Methode der Stärkebestimmung in Getreidearten aus Extraktausbeute. Die Stärkebestimmung im Mais. Chemiker-Ztg. **32**. 157—159 (1908).		
	25. *L. M. Lalin*, Über eine Methode zur Stärkebestimmung in Zerealien mittelst des Eintauchrefraktometers von *Zeiß*. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. **32**. 231—233 (1909).		

[1]) *Friedrich Schubert*, Über Stärkebestimmungen. Österr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. **39**. 411—422 (1910).

Letzterer wird bereitet, indem man 100 *g* Malz 2 Stunden mit 1 *l* Wasser schüttelt und dann filtriert. Man hält das Gemisch 2 Stunden bei 65°, kocht dann nochmals $^1/_2$ Stunde, kühlt wieder auf 65° ab und behandelt mit 10 *cm*³ Normalmalzextrakt 2 Stunden bei 65°, kocht auf und füllt auf 250 *cm*³ auf. 200 *cm*³ des Filtrats werden jetzt mit 15 *cm*³ Salzsäure (spezifisches Gewicht 1·125) im Erlenmeyerkolben mit aufgesetztem Kapillarrohr in kochendem Wasserbade $2^1/_2$ Stunden erhitzt, nach dem Erkalten mit Natronlauge nahezu neutralisiert und auf 500 *cm*³ aufgefüllt. Dann wird in 25 *cm*³ dieser Lösung die gebildete Glukose nach *Allihn*, nach *Bertrand* oder in anderer Weise bestimmt.

Zugleich werden 50 *cm*³ des Malzauszuges mit 150 *cm*³ Wasser und 15 *cm*³ Salzsäure versetzt, gleich wie die Stärkelösung behandelt und auf 250 *cm*³ verdünnt; in 25 *cm*³ dieser Lösung wird danach die Glukosemenge bestimmt und aus dem Endresultat der früheren Bestimmung abgezogen.

Aus den ermittelten Kupfermengen findet man den entsprechenden Stärkegehalt in der folgenden Tabelle.

Pentosanverfahren nach *Lintner*.[1])

(Nr. 5 der Übersichtstabelle.)

Das Verfahren besteht darin, daß man in der hydrolysierten Stärkelösung eine Pentosanbestimmung nach *Tollens*' Phlorogluzidmethode (dieses Handbuch, Bd. II, S. 130) ausführt und die gefundene Pentosanmenge abzieht. Wie es die Beleganalysen von *Lintner* zeigen, liefert die Methode selbst bei sehr differentem Arbeitsverfahren gut übereinstimmende Werte, wie das folgende Zahlen zeigen.

I. 3 *g* Substanz wurden 3 Stunden bei $3^1/_2$ Atmosphären im Dampftopf erhitzt, das Filtrat (200 *cm*³) mit 15 *cm*³ Salzsäure, spez. Gew. 1·125 3 Stunden im kochenden Wasserbade invertiert, neutralisiert, zu 50 *cm*³ aufgefüllt und vom Filtrat 25 *cm*³ zur Reduktion nach *Allihn* verwendet. Die Stärke wurde aus der Dextrosemenge durch Multiplikation mit dem Faktor 0·9 erhalten.

Gefunden 66·80% Stärke berechnet auf die Trockensubstanz.

In dem Filtrate der Stärkeaufschließung wurden 5·19% Pentosane gefunden.

Der korrigierte Stärkewert ist demnach 66·80 — 5·19 = 61·61%.

II. 3 *g* Substanz werden mit Äther entfettet, nach dem Trocknen $^1/_2$ Stunde mit 100 *cm*³ Wasser gekocht, auf 65° abgekühlt, 10 *cm*³ Malzextrakt zugesetzt und $^1/_2$ Stunde bei 64° digeriert, aufgekocht und $^1/_4$ Stunde im Kochen gehalten, abgekühlt, wieder $^1/_2$ Stunde mit 10 *cm*³ Malzauszug bei 65° digeriert, abgekühlt, auf 250 *cm*³ aufgefüllt, filtriert, vom Filtrat 200 *cm*³, wie oben angegeben, invertiert und die Reduktion nach *Allihn* ermittelt.

[1]) *C. J. Lintner*, Über die Bestimmung des Stärkemehlgehaltes in Zerealien. Zeitschr. f. angew. Chemie. **11**. 724—729 (1898).

Bestimmung der Stärke bzw. des Dextrins nach *E. Wein.*[1])

Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*
10	5·5	60	27·7	110	50·4	160	73·5	210	97·1
11	5·9	61	28·2	111	50·9	161	74·0	211	97·6
12	6·4	62	28·6	112	51·3	162	74·5	212	98·1
13	6·8	63	29·1	113	51·8	163	75·0	213	98·6
14	7·3	64	29·5	114	52·2	164	75·4	214	99·0
15	7·7	65	30·0	115	52·7	165	75·9	215	99·5
16	8·1	66	30·4	116	53·2	166	76·3	216	100·0
17	8·6	67	30·9	117	53·6	167	76·8	217	100·4
18	9·0	68	31·3	118	54·1	168	77·3	218	100·9
19	9·5	69	31·8	119	54·5	169	77·8	219	101·4
20	9·9	70	32·2	120	55·0	170	78·2	220	101·9
21	10·4	71	32·7	121	55·4	171	78·7	221	102·4
22	10·8	72	33·1	122	55·9	172	79·1	222	102·9
23	11·3	73	33·6	123	56·3	173	79·6	223	103·3
24	11·7	74	34·0	124	56·8	174	80·1	224	103·8
25	12·2	75	34·5	125	57·3	175	80·6	225	104·3
26	12·6	76	34·9	126	57·8	176	81·0	226	104·8
27	13·1	77	35·4	127	58·2	177	81·5	227	105·2
28	13·5	78	35·8	128	58·7	178	82·0	228	105·7
29	14·0	79	36·2	129	59·1	179	82·4	229	106·2
30	14·4	80	36·7	130	59·6	180	82·9	230	106·7
31	14·9	81	37·2	131	60·0	181	83·4	231	107·1
32	15·3	82	37·6	132	60·5	182	83·8	232	107·6
33	15·8	83	38·1	133	60.9	183	84·3	233	108·1
34	16·2	84	38·6	134	61·4	184	84·8	234	108·6
35	16·7	85	39·1	135	61·9	185	85·2	235	109·1
36	17·0	86	39·5	136	62·4	186	85·7	236	109·6
37	17·5	87	40·0	137	62·8	187	86·2	237	110·1
38	17·9	88	40·4	138	63·3	188	86·7	238	110·6
39	18·4	89	40·9	139	63·7	189	87·1	239	111·1
40	18·8	90	41·3	140	64·2	190	87·6	240	111·5
41	19·3	91	41·8	141	64·6	191	88·1	241	112·0
42	19·7	92	42·2	142	65·1	192	88·6	242	112·5
43	20·2	93	42·6	143	65·6	193	89·1	243	113·0
44	20·6	94	43·1	144	66·1	194	89·5	244	113·4
45	21·1	95	43·6	145	66·5	195	90·0	245	113·9
46	21·5	96	44·0	146	67·0	196	90·5	246	114·4
47	22·0	97	44·5	147	67·4	197	91·0	247	114·8
48	22·4	98	44·9	148	67·9	198	91·4	248	115·3
49	22·9	99	45·4	149	68·4	199	91·8	249	115·8
50	23·3	100	45·8	150	68·9	200	92·3	250	116·3
51	23·8	101	46·3	151	69·3	201	92·8	251	116·8
52	24·2	102	46·7	152	69·8	202	93·3	252	117·3
53	24·7	103	47·2	153	70·3	203	93·8	253	117·7
54	25·1	104	47·6	154	70·7	204	94·3	254	118·2
55	25·5	105	48·1	155	71·2	205	94·8	255	118·7
56	25·9	106	48·6	156	71·6	206	95·2	256	119·2
57	26·4	107	49·1	157	72·1	207	95·7	257	119·7
58	26·8	108	49·5	158	72·6	208	96·2	258	120·2
59	27·3	109	50·0	159	73·1	209	96·7	259	120·7

[1]) *J. König,* Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. III. Aufl. 1906. S. 992 u. 993.

Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*	Kupfer *mg*	Stärke oder Dextrin *mg*
260	121·2	301	141·4	342	161·8	383	182·8	424	204·2
261	121·6	302	141·9	343	162·3	384	183·3	425	204·7
262	122·1	303	142·4	344	162·8	385	183·8	426	205·2
263	122·6	304	142·9	345	163·4	386	184·3	427	205·7
264	123·1	305	143·4	346	163·9	387	184·9	428	206·3
265	123·6	306	143·9	347	164·4	388	185·4	429	206·8
266	124·0	307	144·4	348	164·9	389	185·9	430	207·4
267	124·5	308	144·9	349	165·4	390	186·4	431	207·9
268	124·9	309	145·4	350	165·9	391	186·9	432	208·5
269	125·5	310	145·8	351	166·4	392	187·5	433	209·0
270	126·0	311	146·3	352	166·9	393	188·0	434	209·5
271	126·5	312	146·8	353	167·4	394	188·5	435	210·0
272	127·0	313	147·3	354	167·9	395	189·0	436	210·5
273	127·5	314	147·8	355	168·4	396	189·5	437	211·0
274	128·0	315	148·3	356	168·9	397	190·0	438	211·6
275	128·5	316	148·8	357	169·5	398	190·5	439	212·1
276	129·0	317	149·3	358	170·0	399	191·1	440	212·7
277	129·5	318	149·8	359	170·5	400	191·6	441	213·1
278	130·0	319	150·3	360	171·0	401	192·2	442	213·7
279	130·5	320	150·8	361	171·5	402	192·7	443	214·3
280	131·0	321	151·3	362	172·0	403	193·2	444	214·8
281	131·5	322	151·8	363	172·5	404	193·7	445	215·3
282	132·0	323	152·3	364	173·1	405	194·2	446	215·9
283	132·5	324	152·8	365	173·6	406	194·8	447	216·4
284	133·0	325	153·3	366	174·1	407	195·3	448	216·9
285	133·5	326	153·8	367	174·6	408	195·8	449	217·5
286	134·0	327	154·3	368	175·1	409	196·3	450	218·0
287	134·5	328	154·8	369	175·6	410	196·8	451	218·5
288	135·0	329	155·3	370	176·1	411	197·4	452	219·1
289	135·5	330	155·8	371	176·6	412	197·9	453	219·6
290	135·9	331	156·3	372	177·1	413	198·4	454	220·1
291	136·4	332	156·8	373	177·7	414	198·9	455	220·6
292	136·9	333	157·3	374	178·2	415	199·4	456	221·1
293	137·4	334	157·8	375	178·7	416	200·0	457	221·7
294	137·9	335	158·3	376	179·2	417	200·5	458	222·2
295	138·4	336	158·8	377	179·7	418	201·0	459	222·7
296	138·9	337	159·3	378	180·2	419	201·5	460	223·3
297	139·4	338	159·8	379	180·7	420	202·1	461	223·8
298	139·9	339	160·3	380	181·3	421	202·6	462	224·4
299	140·4	340	160·8	381	181·8	422	203·1	463	224·9
300	140·9	341	161·3	382	182·3	423	203·7		

Gefunden 63·66% Stärke.

Bestimmung der Pentosane in dem invertierten Filtrate nach Abzug der aus dem Malze stammenden Pentosanen: gefunden 2·84%.

Der korrigierte Stärkewert ist demnach 63·66 − 2·84 = 60·82%.

III. 3 *g* Substanz werden mit 200 *cm*³ Wasser und 15 *cm*³ Salzsäure (spez. Gew. 1·125) direkt im kochenden Wasserbad invertiert, neutralisiert, abgekühlt, zu 50 *cm*³ aufgefüllt, filtriert und die Reduktion ermittelt.

Gefunden 70·81% Stärke.

Die Bestimmung der Pentosane im invertierten Filtrate ergab 9·81% Pentosan.

Der korrigierte Stärkewert 70·81 — 9·81 = 61·00%.

Zur Bestimmung der Pentosane werden die Filtrate (je 200 *cm*³) in den Destillierkolben gebracht, 133 *cm*³ Wasser abdestilliert und 33 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·18 zugesetzt, so daß die Lösung 12% Salzsäure enthält und nun nach der Vorschrift von *Tollens* verfahren.

Aus den erhaltenen Werten sieht man, daß bei den drei verschiedenen Methoden nach Abzug der Pentosane die Differenzen nicht groß sind; sie betragen im Maximum nicht 1%.

Streng genommen ist der Abzug der nach *Tollens* gefundenen Pentosanmenge von dem durch Reduktion ermittelten Stärkewert nur dann zulässig, wenn die Pentosane nach der Inversion dasselbe Reduktionsvermögen aufweisen wie die Glukose. Ein Gemisch von Arabinose und Xylose zeigt tatsächlich ein praktisch gleiches Reduktionsvermögen als dieselbe Menge Glukose[1]), außerdem beeinflussen die Pentosen die Reduktionskraft der Glukose nicht. Demnach kann das *Lintner*sche Verfahren ohne Bedenken angewendet werden und liefert noch die besten Resultate.

B. Direkte Methoden der Stärkebestimmung.

Die besseren Methoden beruhen auf der Unlöslichkeit der Stärke in verdünntem, etwa 60%igem Alkohol. Die Substanz wird zunächst in lösliche Stärke umgewandelt und im Filtrate die Stärke mit Alkohol ausgefällt.

Gewichtsanalytisches Stärkebestimmungsverfahren für Mehl und Handelsstärke von *Baumert* und *Bode*, abgeändert von *Witte*.[2])

(Nr. 15 der Tabelle.)

Unter peinlicher Einhaltung der Vorschrift werden sehr gute Resultate erhalten.

Die zu untersuchende Substanz wird zuvor durch ein feines Haarsieb getrieben, dann werden zweimal je 1 *g* im Porzellanbecher mit wenig Wasser fein angerührt. Der hierzu benutzte Glasstab wird nötigenfalls zur Entfernung anhängender Teilchen mit einem Flöckchen Asbest abgerieben und abgespritzt. Die unwesentliche Volumveränderung der Lösung durch die Spur Asbest ist ohne Belang für das Ergebnis. Zugleich erleichtert

---

[1]) *Stephan Weiser* und *Arthur Zaitschek*, Über Stärkebestimmung in pentosanhaltigen Substanzen. Die Landwirtschaftliche Versuchsstation. 58. 219—231 (1903).

[2]) *G. Baumert* und *H. Bode*, Zur Bestimmung des wahren Stärkegehaltes der Kartoffeln., Zeitschr. f. angew. Chemie. **1900**. 1074—1078; 1111—1113. — *H. Witte*, Die gewichtsanalytische Stärkebestimmung von *G. Baumert* und *H. Bode*, angewandt auf Mehl und Handelsstärke. Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. 7. 65—77 (1904).

der Asbest das spätere Sieden. Die etwa 100 *cm*³ fassenden Becher werden jetzt zu etwa drei Vierteilen gefüllt und mit dem Deckel mit übergreifendem Rand verschlossen im Autoklaven 2 Stunden bei 4 Atmosphären erhitzt. Für Reis und Mais allerdings ändern sich diese Zahlen, weil sie unter obigen Verhältnissen schwer oder nicht filtrierbare Lösungen geben, d. h. überhaupt nicht vollständig in Lösung gehen. Deshalb müssen Mais- und Reisstärke 2 Stunden bei 4½ Atmosphären erhitzt werden.

Nach dem Abkühlen unter 100°, was nach etwa ½ Stunde erfolgt, und Öffnen wird der Inhalt der Becher unter gutem Nachspülen und Auswaschen mit einer Federfahne mit heißem Wasser in eine geräumige Kochflasche gebracht, in der sich einige Zinkspäne befinden und 10 Minuten lang gekocht. Durch die Zinkspäne wird das häufig eintretende heftige Stoßen und Herausspritzen der Flüssigkeit verhindert. Ein etwaiges zu starkes Schaumen wird am einfachsten durch Einblasen von kalter Luft in den Kolben beseitigt. Die Lösung wird jetzt unter sorgfältigem Nachspülen mit heißem Wasser in einen Kolben von 500 *cm*³ gebracht, nahezu aufgefüllt und durch Einstellen in kaltes Wasser unter Umschwenken abgekühlt; sodann wird mit kaltem Wasser zur Marke aufgefüllt und gut gemischt.

Die Lösung wird an der Saugpumpe durch ein nicht zu dickes Asbestfilter filtriert, wobei das zuerst filtrierte zweimal weggegossen wird wegen der Verdünnung durch das in Filter und Glas befindliche Wasser. Vom Filtrat werden 50 *cm*³ in ein Becherglas gebracht, mit je 5 *cm*³ 10⁰/₀iger Natronlauge und je etwa 1 *g* feinflockigem Asbest versetzt. Die Mischung wird mit 100 *cm*³ 96⁰/₀igem Alkohol gefällt und mit einem Glasstabe gut verrührt. Man läßt kurze Zeit absetzen und filtriert das Überstehende durch ein 20—22 *mm* weites Asbestfilterrohr mittelst der Saugpumpe ab. Den Rückstand bringt man mit 40 *cm*³ 60⁰/₀igen Alkohols in das Röhrchen und wäscht, unter Auswischen des Glases mit einer Federfahne, nacheinander mit 40 *cm*³ 60⁰/₀igen Alkohols, dann mit 25 *cm*³ Alkohol + 10 *cm*³ Wasser, dem 5 *cm*³ 10⁰/₀ige Salzsäure zugefügt ist. Man wäscht bei der letzteren Operation zuerst das Becherglas mit der Salzsäure, der man 10 *cm*³ Wasser zufügt, mittelst einer Federfahne gut aus, wischt ebenso den benutzten Glasstab ab und setzt dann erst den Alkohol zu. Es haften immer feine Stärketeilchen fest am Glase, besonders bei Benutzung von 80⁰/₀igem Alkohol, die nur auf die genannte Weise zu entfernen sind. Man wäscht jetzt wieder mit 40 *cm*³ 60⁰/₀igem, dann mit 25 *cm*³ 96⁰/₀igem Alkohol, zuletzt mit Äther aus, wobei man mit dem Glasstabe den Niederschlag im Röhrchen oft anrührt und zum Schluß den Glasstab, nachdem der Niederschlag leicht zusammengedrückt ist, mit der Federfahne im Alkohol abwischt.

Nach scharfem Absaugen werden die Röhrchen in einem Luftbade bei etwa 120° unter Hindurchsaugen eines langsamen, mit Schwefelsäure getrockneten Luftstromes getrocknet, was in etwa 20 Minuten bereits vollkommen erreicht ist. Die Röhrchen werden dann nach dem Erkalten im

Exsikkator sofort gewogen, die Stärke im Luft- bzw. Sauerstoffstrome verbrannt und die Röhrchen, nach dem Erkalten im Exsikkator, wieder gewogen.

Das Verbrennen geschieht am besten unter starkem Saugen an der Wasserstrahlpumpe mit vorgelegter Schwefelsäure-Trockenflasche. Direkt bevor man den Asbestpfropfen erhitzt, nachdem das ganze Röhrchen zuvor gleichmäßig erwärmt ist, erhitzt man stark den verjüngten Teil: hierdurch wird vermieden, daß sich in demselben zu viel Destillat ansammelt, welches schwer verbrennliche Kohle bildet. Dieselbe setzt sich dann nur im äußersten, durch einen Kork mit der Zuleitung zur Saugpumpe verbundenen Ende an und wird, nachdem die Stärke vollständig verbrannt ist, entweder im Sauerstoffstrom oder im durchgeblasenen Luftstrom verbrannt. Das Verbrennen im starken Luftstrome an der Saugpumpe ist dem im Sauerstoffstrom vorzuziehen, weil hierbei niemals die durch letzteren oft innerhalb des Röhrchens verursachten kleinen Explosionen stattfinden können, noch besonders auch ein Teil des Destillates zurückschlägt, d. h. im vorderen, weiten Teil des Röhrchens sich kondensiert.

Bei der Untersuchung von Handelsstärken werden 2 *g* in einem Becher behandelt. Dies kann wegen des geringen Gehaltes an Proteinstoffen geschehen. Dagegen ist bei Mehl die Verteilung in zwei Becher vorzuziehen, da das zusammenballende Eiweiß leicht Stärketeilchen einschließt, die dann nicht oder nur schwierig in Lösung zu bringen sind. Bei Handelsstärken werden die Proben nach dem Erhitzen auf 250 cm^3 aufgefüllt und davon je 20 cm^3 mit 5 cm^3 10%iger Natronlauge und 120 cm^3 96%igem Alkohol versetzt. Zum Auswaschen nimmt man 25 cm^3 Alkohol unter Zusatz von 5 cm^3 Wasser bzw. 5 cm^3 10%iger Salzsäure.

Direkte Methode der Stärkebestimmung in Gegenwart von großen Mengen Proteinsubstanz nach *Mayrhofer*.[1]

(Nr. 14 der Tabelle.)

Die Methode beruht auf dem Löslichmachen der Proteine und der Fette mit alkoholischer Kalilauge, wobei die Stärke ungelöst bleibt. Man löst jetzt die Stärke in verdünntem Alkali und fällt sie nach dem Ansäuern mit Essigsäure und Alkohol.

Zur Ausführung erwärmt man die Substanz auf dem Wasserbade mit 8%iger alkoholischer Kalilauge. Nach erfolgter Lösung wird, um das Gelatinieren der Seife zu verhindern, mit heißem Alkohol verdünnt, der unlösliche Rückstand auf Asbest gesammelt und mit Alkohol bis zum Ver-

[1]) *J. Mayrhofer*, Über die Bestimmung der Stärke in Fleischwaren. Forschungsbericht über Lebensmittel und ihre Beziehung zur Hygiene etc. 3. 141—143 (1896); Über die quantitative Bestimmung von Glykogen und Stärke in Wurst- und Fleischwaren. Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. 4. 1101—1106 (1901). — *C. Lietz*, Über Stärkebestimmungen. Berichte der Deutschen pharmazeut. Ges. 12. 153—166 (1902). — *Hans Kreis*, Über Versuche zur Stärkebestimmung im Tafelsenf. Chemiker-Ztg. 34. 1021—1023 (1910).

schwinden der alkalischen Reaktion ausgewaschen. Sodann wird der Rückstand mit wässeriger Kalilauge behandelt, dadurch die Stärke gelöst. Man säuert jetzt mit Essigsäure an und fällt die Stärke mit Alkohol aus, filtriert, trocknet und wägt.

Eine raschere Ausführung der *Mayrhofer*schen Bestimmungsmethode hat *O. Lietz* (siehe Nr. 7 der Tabelle) vorgeschlagen. Seine (indirekte) Arbeitsweise ändert sich je nachdem die zu untersuchende Substanz weniger oder mehr zellulosehaltig ist.

A. Die Substanz enthält wenig Zellulose. Je nach dem Stärkegehalt erwärmt man 2—10 *g* in einem ca. 500 *cm*³ fassenden Kolben mit 75 *cm*³ einer alkoholischen Kalilauge, die aus 5%iger Kalilauge und 90%igem Alkohol hergestellt ist, etwa 20 Minuten im Wasserbade. Darauf filtriert man den Inhalt durch Asbest an der Saugpumpe ab, wäscht mit 70%igem heißen Alkohol nach und bringt den Rückstand mit dem Asbest, der sich leicht abheben läßt, in denselben Kolben zurück. Hierdurch braucht man also gar nicht den Rückstand quantitativ aufs Filter zu bringen, was immerhin mit einigen Schwierigkeiten verknüpft ist, da sich derselbe teilweise an die Wandung des Gefäßes festsetzt. Man füllt auf etwa 200 *cm*³ auf und invertiert unter Zusatz von 20 *cm*³ Salzsäure 2½ Stunden im siedenden Wasserbade. Alsdann kühlt man schnell ab, neutralisiert annähernd mit Kalilauge, so daß die Flüssigkeit noch schwach sauer ist, füllt das Ganze auf 300 *cm*³ auf und bestimmt die gebildete Glukose gravimetrisch und rechnet sie auf Stärke um (siehe dort).

B. Die Substanz enthält viel Zellulose. Da aus der Zellulose bei der Säureeinwirkung ebenfalls geringe Mengen Glukose abgespalten werden, so behandelt man den Rückstand zunächst mit 30—60 *cm*³ einer 3—5%igen wässerigen Kalilauge auf dem Wasserbade, wobei Lösung der Stärke erfolgt. Darauf füllt man den Inhalt auf 400 *cm*³ auf, filtriert durch ein Faltenfilter 200 *cm*³ ab, neutralisiert mit Salzsäure, fügt gleichzeitig 20 *cm*³ mehr hinzu, invertiert 2½ Stunden und bestimmt dann wieder die gebildete Glukose in 25 oder 50 *cm*³ der Flüssigkeit.

Bestimmung der Stärke neben Glykogen nach *Mayrhofer*.[1]

Der nach der Behandlung mit alkoholischer Kalilauge verbleibende Rückstand wird zwecks Entfernung der Lauge (bzw. der gelösten Substanzen aus dem Fleisch usw.) mit heißem Alkohol von 96 Vol.% durch Dekantieren ausgewaschen, wobei vorsichtig darauf zu achten ist, daß möglichst wenig von dem Rückstande auf das Filter gelangt. Um nun das auf diese Art nicht auswaschbare Alkali zu entfernen, wird das Filter, auf welches geringe Mengen von Stärke und Glykogen gelangt sein können, mit Alkohol von 50 Vol.%, welchem etwa 5% Eisessig zugesetzt

[1]) *J. Mayrhofer*, Über die quantitative Bestimmung von Glykogen und Stärke in Wurst- und Fleischwaren. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 4. 1101 bis 1106 (1901)

worden sind, bis auf den Rand gefüllt, die Saugpumpe einige Zeit abgestellt und erst dann abgesaugt, wenn das Filtrat deutlich saure Reaktion zeigt, und darauf das Filter mehrmals mit Alkohol von 96 Vol.% nachgewaschen. Der Rückstand im Becherglase wird mit wenig Wasser, dann mit Essigsäure bis zur bleibenden sauren Reaktion versetzt, Stärke und Glykogen mit überschüssigem Alkohol (96%) ausgefällt und wiederholt zur Entfernung des Kaliumazetats mit Alkohol (96%) gewaschen. Je vollständiger das Salz ausgewaschen wird, mit um so geringeren Alkoholmengen läßt sich die Trennung der beiden Kohlenhydrate durchführen und um so geringer sind die Verluste, welche durch die Löslichkeit der Stärke in verdünntem Alkohol veranlaßt werden.

Der in dem Becherglase nach dem Auswaschen des Azetats verbleibende Rückstand wird mit 10 *cm*³ Alkohol (49%) auf dem Wasserbade auf ungefähr 80° C erwärmt und die Flüssigkeit rasch auf den Heißwassertrichter gebracht und abgesaugt, wobei darauf zu achten ist, daß das Filter niemals leer gesaugt wird, da sonst die Stärke, welche durch die Behandlung mit dem verdünnten Alkohol etwas aufquillt, die Poren des Filters vollständig verstopft und ein weiteres Filtrieren verhindert. Sollte dennoch dies geschehen sein, so kann durch Übergießen des Filters mit Alkohol von 96% ein rascheres Filtrieren ermöglicht werden, weil hierdurch die gequollene Stärke flockig wird.

Um die Dauer der Behandlung des Rückstandes mit verdünntem Alkohol möglichst abzukürzen und langwieriges Filtrieren zu vermeiden, wird der Rückstand mit 10 *cm*³ 44%igen Alkohols auf 80° erwärmt, wodurch der größte Teil des Glykogens in Lösung gebracht wird und nur geringe Mengen davon zurückbleiben, die durch viermaliges Dekantieren mit 49%igem Alkohol fast völlig entfernt werden können, wodurch allerdings ein etwas größerer Stärkeverlust veranlaßt wird. Die vom Glykogen befreite Stärke wird nun in wässeriger Kalilauge gelöst, filtriert und die Stärke mit starkem Alkohol ausgefällt und vorsichtig getrocknet.

Bestimmung der Stärke in Gegenwart von Glykogen nach *Piettre*.[1])

Die Methode ist bei Substanzen, in welchen Stärke mit Fleisch vermischt vorkommt, z. B. Wurstwaren etc., anwendbar.

25 *g* des Produktes werden nach guter Zerkleinerung in einer Porzellanschale mit 80—90 *cm*³ einer alkoholischen Kalilauge (20 *cm*³ Kalilauge von 35° Bé und 80 *cm*³ absolutem Alkohol) übergossen, dann mit einem Trichter überdeckt, an welchem ein Rückflußkühler angebracht ist, und auf dem Wasserbade erwärmt, bis die Proteine sich gelöst haben. Schließlich wird warm filtriert, wobei Glykogen, Stärke und eventuell andere schwer lösliche Substanzen zurückbleiben. Man wäscht den Rückstand zu-

[1]) *Maurice Piettre*, Trennung und Bestimmung des Glykogens und der Stärke. Nachweis von Pferdefleisch in Wurstwaren. Annales de Chimie analytique appliquée. **14**. 206—207 (1909).

nächst mit 80%igem Alkohol, sodann zur Entfernung des Alkalis mit ebensolchem salzsäurehaltigen Alkohol aus. Man zieht den Rückstand mit warmem, schwach alkalischem Wasser aus und fällt die Auszüge mit dem gleichen Volumen Alkohol. Dabei fällt die Stärke aus und aus dem Filtrate kann durch Eindampfen und Fällen mit Alkohol das Glykogen isoliert werden.

Trennung von Stärke und Glykogen nach *Baur* und *Polenske*.[1])

Man behandelt etwa 0·2 *g* des nach dem Verfahren von *Mayrhofer* (siehe oben) erhaltenen Rückstandes von Stärke und Glykogen mit 30 *cm*³ Wasser und versetzt die entstandene Lösung mit 11 *g* festem, feingepulvertem Ammoniumsulfat. Hierbei wird nur die Stärke abgeschieden, während das Glykogen in Lösung bleibt. Die Stärke wird abfiltriert und mit einer Lösung, die 11 *g* Ammoniumsulfat in 30 *cm*³ Wasser enthält, gewaschen, dann, um das Ammoniumsulfat zu entfernen, mit 50%igem Alkohol behandelt.

Aus dem Filtrate (60 *cm*³) wird nach dem Verdünnen mit Wasser auf 300 *cm*³ das Glykogen mit 500 *cm*³ Alkohol ausgefällt. Man erhält aber für Glykogen bessere Werte, wenn man nur die Stärke in dem Gemisch Stärke + Glykogen bestimmt und das Glykogen aus der Differenz berechnet.

C. Bestimmung der löslichen Stärke durch Polarisation nach Lintner.[2])

(Nr. 11 der Tabelle.)

Wenn die Werte, welche dieses Verfahren liefert, auch nicht völlig den wahren Stärkewerten entsprechen, so kommen sie diesen doch jedenfalls näher als die bei der Aufschließung im Dampftopf erhaltenen. Sie sind wesentlich niedriger als diese und stimmen wenigstens bei der Gerste annähernd mit jenen überein, die unter Berücksichtigung der Pentosane ermittelt werden.

Man löst die zu untersuchende Substanz in konzentrierter Salzsäure und läßt die Lösung vor der Polarisation etwa 30 Minuten ruhig stehen. Dabei tritt keine Abnahme der Drehung ein. Das Verfahren ist zunächst für die Bestimmung von Gersten-, Kartoffel-, Roggen-, Weizen-, Mais- und Reisstärke beschränkt worden. Nachdem die Beständigkeit der

[1]) *Emil Baur* und *Eduard Polenske*, Über ein Verfahren zur Trennung von Stärke und Glykogen. Arbeiten des Kaiserl. Gesundheitsamtes. **24**. 576—580 (1906); *A. Kickton* und *R. Murdfield*, Über den praktischen Wert der Glykogenbestimmung zum Nachweise von Pferdefleisch. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. **14**. 501 bis 511 (1907)

[2]) *C. J. Lintner*, Über die Bestimmung des Stärkegehaltes in Zerealien durch Polarisation. Zeitschr. f. Unters d. Nahrungs- u. Genußmittel. **14**. 205—208 (1907); *Gustav Belschner*, Bestimmung der Stärke in Zerealien durch Polarisation. Inaug.-Diss. München 1907; — *Rudolf Woy*, Zollamtliche Beurteilung von Roggen- und Weizenkleie auf Grund des Reinstärkegehaltes. Zeitschr. f. öffentl. Chemie. **17**. 101—109 (1911).

salzsauren Stärkelösung ermittelt war, wurde das spezifische Drehungsvermögen der einzelnen Stärkearten unter den gleichen Bedingungen festgestellt, unter denen nachher die Bestimmungen des Stärkegehaltes der Rohmaterialien erfolgen sollte.

Der Einfluß eines Phosphorwolframsäurezusatzes auf die Polarisation wurde bei der Untersuchung der Gerste eingehend studiert. Es war von vornherein anzunehmen, daß auf Zusatz von wechselnden Mengen Phosphorwolframsäure das Drehungsvermögen ein Maximum erreichen werde, um bei einem gewissen Überschuß wieder zu fallen. Die Zunahme mußte durch die Ausfällung links drehender Eiweißkörper, die Abnahme dadurch zustande kommen, daß durch den Überschuß an Phosphorwolframsäure etwas Stärke abgeschieden wird.

Für das spezifische Drehungsvermögen wurden folgende Werte gefunden:

	$[\alpha]_D^{20^0}$
Gerstenstärke	200·3°
Roggenstärke	201·6°
Weizenstärke	202·4°
Maisstärke	201·5°
Reisstärke	202·5°
Kartoffelstärke	204·3°

Man wird keinen allzu großen Fehler begehen, wenn man für vergleichende Untersuchungen für Stärke den Mittelwert abgerundet als 202° nimmt.

Die Ausführung der Bestimmung gestaltet sich folgendermaßen:

Das zu untersuchende Material ist möglichst fein zu mahlen. Dazu eignet sich die *Dreef*sche Mühle oder die *Seck*sche Feinmühle.

2·5 *g* des Materials werden mit 10 *cm*³ Wasser in einer Reibschale gut verrieben, bis keine Klümpchen mehr vorhanden sind. Hierauf werden 15 bis 20 *cm*³ reine konzentrierte Salzsäure (spez. Gew. 1·19) zugegeben und innig gemischt. Man läßt nun 30 Minuten ruhig stehen, wobei der mehr oder weniger hellgelbe, dickflüssige Brei bald dunkler und dünnflüssig wird. Nach der angegebenen Zeit wird die Flüssigkeit mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·125 in ein 100 *cm*³-Kölbchen gespült, wobei man sich eines Gummiwischers bedient. Man setzt nun 5 *cm*³ einer 4%igen Phosphorwolframsäurelösung hinzu und füllt mit der verdünnten Salzsäure bis zur Marke auf. Nach gehörigem Umschütteln filtriert man durch ein Faltenfilter, dessen Spitze man zum Schutze gegen etwaiges Durchreißen mit einem kleinen glatten Filter umgeben hat. Das vollkommen blanke Filtrat wird dann in einem 200 *mm* Rohr mit Natriumlicht polarisiert. Man bedient sich mit Vorteil eines Patentbeobachtungsrohres mit Hartgummifassung von *Schmidt & Hänsch*.

Das Arbeiten mit der konzentrierten Salzsäure bringt wegen ihrer Flüssigkeit mancherlei Unzuträglichkeiten mit sich, welche namentlich bei Massenanalysen sich fühlbar machen.

Wenglein[1]) versuchte deshalb die Salzsäure durch Schwefelsäure zu ersetzen (Nr. 12 der Tabelle) und es ist ihm auch gelungen, Bedingungen ausfindig zu machen, unter denen man bei der Untersuchung z. B. von Gersten übereinstimmende Werte erhält. Die Drehung war aber stets niedriger als bei der Lösung der Stärke in Salzsäure. Es hat sich nun gezeigt, daß auch die reine Gerstenstärke in der schwefelsauren Lösung niedriger drehte, und zwar wurde $[\alpha]_D^{20} = 191{\cdot}7^0$ gefunden.

Legte man dieses Drehungsvermögen der Bestimmung des Stärkegehaltes zugrunde, so wurden bei der Lösung der Stärke mit Schwefelsäure und bei der mit Salzsäure gut übereinstimmende Werte erhalten. Die Ausführung des Verfahrens gestaltet sich dann folgendermaßen:

2·5 *g* der feingemahlenen Substanz werden in einer glasierten Reibschale mit 10 *cm*³ Wasser und darauf mit 20 *cm*³ Schwefelsäure vom spezifischen Gewicht 1·70 — entsprechend 77 Gew.⁰/₀ Schwefelsäure — verrieben und 10—25 Minuten stehen gelassen; dann wird unter Anwendung eines Gummiwischers mit verdünnter Schwefelsäure 1 : 3 in ein 100 *cm*³-Kölbchen gespüllt, 5 *cm*³ einer 8⁰/₀igen Phosphorwolframsäurelösung zugesetzt, zu 100 *cm*³ aufgefüllt und filtriert. Das Filtrat ist völlig klar und bei Anwendung der angegebenen Menge Phosphorwolframsäure sehr schwach gefärbt, so daß es sich leicht polarisieren läßt. Mit 4⁰/₀iger Phosphorwolframsäurelösung, wie sie bei der Salzsäuremethode angewendet wurde, ist das Filtrat stärker gefärbt. Die Phosphorwolframsäure wirkt nicht nur als Klär-, sondern auch als ausgezeichnetes Entfärbungsmittel.

Bemerkenswert ist die große Beständigkeit, welche die zu 100 *cm*³ aufgefüllte schwefelsaure Lösung oder das Filtrat aufweisen. Wiederholt wurde beobachtet, daß selbst nach 30 Stunden noch keine wesentliche Abnahme der Drehung eingetreten war.

Allerdings scheinen durch die Lösung mit Schwefelsäure bei verschiedenen Stärkearten sich größere Unterschiede in der spezifischen Drehung zu ergeben als durch die mit Salzsäure, so daß man für jede Stärkeart das spezifische Drehungsvermögen ermitteln muß, während man für Salzsäure sich des Mittelwertes von $[\alpha]_D = 202^0$ bedienen kann.

Es empfiehlt sich demnach, in Laboratorien, in welchen Stärkebestimmungen nur vereinzelt und mit sehr verschiedenartigem stärkehaltigen Material vorkommen, die Salzsäure und das mittlere Drehungsvermögen $[\alpha]_D = 202^0$ beizubehalten.

Das *Lintner*sche Verfahren wurde von *F. Schubert*[2]) darin abgeändert, daß man die abgewogene Substanz mit 25 *cm*³ 1⁰/₀iger Phosphor-

[1]) *O. Wenglein,* Zur Bestimmung des Stärkegehaltes in Gersten durch Polarisation. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. **31**. 53—56 (1908); Die Beziehungen des Stärkegehaltes der Gerste zu deren Proteingehalt und Korngröße. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. **31**. 257—261 (1908). *C. J. Lintner,* Über polarimetrische Stärkebestimmung. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. **16**. 509—512 (1908).

[2]) *Friedrich Schubert,* Über Stärkebestimmungen. Österreichisch-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie und Landwirtschaft. **39**. 411—422 (1910).

wolframsäure verreibt, dann 75 *cm*³ Salzsäure zusetzt und nach einer halben Stunde filtriert. Man füllt also nicht mehr auf 100 *cm*³ auf, sondern verwendet von vornherein 100 *cm*³ Flüssigkeit und erspart hierbei das Umfüllen in den Meßkolben. Dabei ist aber eine Volumkorrektur für die gelöste Stärke und den Wassergehalt der Substanz anzubringen. Diese ergibt sich daraus, daß 1 *g* reine Stärke ein Volumen von 0·49 *cm*³ einnimmt.

A. Scholl[1]) schlug eine Abänderung der *Lintner*schen Vorschrift bei Substanzen, die mit Phosphorwolframsäure sich nicht genügend klären lassen (z. B. Kartoffelbrei), vor. Die zweckmäßigste Ausführungsform dieses Verfahrens ist dann folgende:

20 *g* des gut durchgemischten homogenen Kartoffelbreies werden auf eine mit stärkedichter Asbestlage 0·6 *g* versehene Filterplatte gebracht und an der Saugpumpe filtriert. Der Rückstand wird 3mal mit je 5—10 *cm*³ Wasser, 3mal mit je etwa 5 *cm*³ 96%igem Alkohol und endlich mit wenig Äther ausgewaschen. Nun bringt man den Rückstand mit dem Asbest in die zum Abwägen des Breies benutzte Schale zurück, verteilt ihn mit 20 *cm*³ Wasser, fügt 40 *cm*³ konzentrierte Salzsäure (1·19) hinzu und verrührt die Masse möglichst gleichmäßig. Nach etwa ¼stündigem Stehen rührt man nochmals gut durch, läßt noch weitere 15 Minuten stehen, spült die Masse alsdann mit Wasser in einen 200 *cm*³-Kolben und füllt mit Wasser bis zur Marke auf. Für die in der Flüssigkeit suspendierten festen Stoffe kann eine Korrektur angebracht werden, welche rund 0·9 *cm*³ betragen würde. Nach dem Durchmischen wird filtriert und das Filtrat bei der Normaltemperatur polarisiert.

Die nachfolgende Tabelle zeigt, daß diese modifizierte *Lintner*sche, wie auch die im gleichen Sinne modifizierte *Ewers*sche (13. der Tabelle) Methode für die Stärkebestimmung in Kartoffeln sehr brauchbar ist.

Stärkebestimmungen in Kartoffeln.

Durch Bestimmung des spez. Gewichtes %	Dampftopfverfahren % Nr. 1 der Tabelle	Kochverfahren % Nr. 5 der Tabelle	Polarimetrisch nach *Lintner* %	Polarimetrisch nach *Ewers* %	Stärkegehalt des Rückstandes vom Dampftopfverfahren %
15·10, 16·20	16·12	—	17·45, 17·65	17·55	—
15·10	14·32	16·77, 16·55	16·70, 16·83	16·88, 16·78	2·20
13·9, 14·50	14·11, 13·71	14·33, 14·11	14·26, 14·38	14·34, 14·40	—
14·50, 14·46	13·51, 13·20	14·86, 15·02	15·20	15·14	2·02
16·60, 15·40	16·92	17·88, 18·01	17·78, 17·70	17·90	1·10
14·90, 15·70	15·32	17·06, 17·02	16·95, 16·86	17·20, 16·96	1·95
14·70	15·17, 15·02	17·42, 16·96	17·51, 17·44	17·34	1·93
14·00	—	15·66	15·78	15·91	—
19·20	—	19·80	19·57	19·74	—
15·20	13·40	16·03	16·32, 16·22	16·16, 16·30	2·62
16·86	13·80	16·76	16·46, 16·48	16·56, 16·69	2·80

[1]) *A. Scholl*, Die Bestimmung der Stärke in Futter- und Nahrungsmittel. Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. 18. 157—167 (1909).

Nach den Untersuchungen von *Scholl* ist die *Lintner*sche Methode bei der Bestimmung der Stärke in Futtermittel ebenfalls sehr geeignet. Die Pentosane, welche in derartigen Mehlen in großen Mengen vorhanden zu sein pflegen, verursachen dabei keinen nennenswerten Fehler, denn die Übereinstimmung der Ergebnisse mit den nach dem „Kochverfahren" nach Abzug der Pentosane erhaltenen ist durchweg eine gute.

Hier empfiehlt sich ebenfalls eine Vorbehandlung mit Wasser, Alkohol und Äther, um tunlichst die Stoffe, welche die Polarisation fehlerhaft beeinflussen können, zu entfernen.[1])

Stärkebestimmungen in Futtermehlen.

Bezeichnung	Dampftopfverfahren % Nr. 1 d. Tabelle	Kochverfahren % Nr. 5 d. Tabelle	Polarimetrisch nach *Lintner* %	Rohfasser nach *J. König* %
Weizenkleie, ausgewaschen . . .	13·20	16·28	16·50	10·62
Desgleichen, nicht ausgewaschen .	—	16·80	17·42	—
Weizenkleie, ausgewaschen . . .	39·92	41·92	41·89	4·62
Desgleichen, nicht ausgewaschen .	—	41·96	43·00	—
Weizenkleie, ausgewaschen . . .	15·44	17·25	17·68	10·14
Desgleichen, nicht ausgewaschen .	—	17·80	18·99	—
Weizenkleie, ausgewaschen . . .	21·68	22·16	21·85	7·27
Desgleichen	20·46	22·94	22·73	6·66
Desgleichen	12·20	14·30	14·43	11·36
Desgleichen	12·00	14·13	14·33	11·93
Desgleichen	—	14·39	14·72	12·13
Bollmehl, ausgewaschen	—	28·24	28·06	7·72
Desgleichen	—	21·72	21·94	—
Desgleichen	26·00	29·35	28·96	—
Desgleichen	—	23·71	23·66	5·68
Gerstenfuttermehl, ausgewaschen	23·85	25·70	26·27	10·14
Desgleichen	—	25·32	25·10	11·47
Desgleichen	—	26·58	26·32	8·87
Desgleichen	—	29·00	29·64	9·82

D. Physiologische Methode von Boidin.[2])
(Nr. 22 der Tabelle.)

Dabei wird die Stärkemenge durch Gärung in absolut steriler Flüssigkeit mittelst Reinhefe ermittelt, dagegen wird die vorhergehende Verzuckerung der Stärke nicht mittelst Malzauszug, sondern mittelst eines verzuckernden Pilzes bewirkt, der im sogenannten Amyloverfahren auch technische Anwendung findet.

30 *g* des auf seinen Stärkegehalt zu untersuchenden, feingemahlenen Mehles (Mais, Reis usw.) werden in einem Glaskolben von ungefähr $^1/_2$ *l* Inhalt mit 100 cm^3 destillierten Wassers und 20 cm^3 verdünnter Weinsäure (84 *g* Weinsäure in 1 *l*) gebracht. Der Kolben wird mit einem

[1]) *W. Greifenhagen*, *J. König* und *A. Scholl*, Bestimmung der Stärke. Biochemische Zeitschr. 35. 194—216 (1911).

[2]) *M. Maerker* und *M. Delbrück*, Handbuch der Spiritusfabrikation. 9. Aufl. S. 170.

Stopfen, durch dessen Bohrung ein zu einer Spitze ausgezogenes offenes Glasrohr führt, verschlossen, darauf in siedendes Wasser eingetaucht und so lange hin und her geschwenkt, bis vollständige Verkleisterung eingetreten ist, und die Wandungen mit einer gleichmäßigen Kleisterschicht überzogen sind. Hierauf wird der Kolben mit einem Wattestopfen verschlossen, und nachdem der Kolbenhals mit einer losen Zinnkapsel überdeckt ist, im Dampftopfe 40 Minuten lang auf 120° erhitzt. Nach dem Erkalten wird in denselben unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln 1·25 *g* vorher in einem Reagenzglase sterilisierten Kalziumkarbonats zur Abstumpfung der Weinsäure eingeführt, und entweder eine Aussaat von Sporen eines verzuckernden Schimmelpilzes oder besser ein vorher in einem besonderen Kolben gezüchtetes, mehrfach mit sterilem Wasser ausgewaschenes Schimmelmyzel übergeführt. Der Glaskolben wird hierauf mit dem Wattestopfen und einem Schwefelsäureverschluß versehen und in einem Wasserbad oder einem Thermostaten bei 30° C sich selbst überlassen. Nach 24—36 Stunden, wenn ungefähr $^3/_4$ der Oberfläche mit Schimmelrasen überzogen ist, wird mittelst steriler Pipette ein Tropfen einer Hefenaufschwemmung (Reinkultur) hinzugefügt. Nach 48 Stunden wird der Kolben gewogen; findet innerhalb weiterer 48 Stunden keine nennenswerte Gewichtsabnahme mehr statt, so wird die Menge des gebildeten Alkohols bestimmt.

Zu diesem Zwecke wird der Kolbeninhalt auf 500 *cm*³ aufgefüllt, filtriert und in 10 *cm*³ des Filtrats der Alkohol nach der Methode von *Nicloux-Martin*[1]) mittelst Kaliumbichromat und Schwefelsäure bestimmt.

Um zu prüfen, ob die Bestimmung als einwandfrei angesehen werden kann, soll man folgende Proben ausführen:

1. Es wird die Vergärung der vergorenen Maische bestimmt, bzw. die Vergärung der auf 500 *cm*³ verdünnten Maische auf das Volumen der ursprünglichen Maische (150 *cm*³) umgerechnet. Dieselbe muß z. B. für Mais — 0·25° bis — 0·4°; für Reis — 0·75° bis — 1·0° Balling (mit dem *Balling*schen Saccharometer[2]) gemessen) betragen.

2. 50 *cm*³ der auf 500 *cm*³ verdünnten Maische werden mit 55 *cm*³ *Fehling*scher Lösung und 35 *cm*³ Wasser versetzt, zum Kochen erhitzt und zwei Minuten im Sieden gehalten: es darf sich bei vollständiger Vergärung keine Spur von Cuprooxyd bilden.

3. Eine Probe der beim Filtrieren der vergorenen Maische auf dem Filter zurückgebliebenen Treber darf mit Jod versetzt unter dem Mikroskop weder Spuren von Stärke, noch Bakterien erkennen lassen.

4. Eine kleine Probe der Treber wird mit 10 *cm*³ einer 10%igen Natronlauge versetzt: nach $^1/_2$ Stunde wird die Mischung schwach ange-

[1]) *Maurice Nicloux,* Dosage de l'alcool dans le chloroform. Bulletin de la Soc. Chimique de Paris (3. Serie). T. 35. S. 330 (1906). — *H. Pringsheim,* Nachweis und Bestimmung der biologisch wichtigen niederen Alkohole. *Emil Abderhalden*s Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden. Bd. 2. S. 7.

[2]) *Maerker-Delbrück,* Handbuch der Spiritusfabrikation. 9. Aufl. S. 210.

säuert. Setzt man jetzt Jodlösung tropfenweise hinzu, so kann die Aufschließung der Stärke dann als vollkommen gelten, wenn bereits auf Zusatz von drei bis vier Tropfen Jodlösung die anfänglich blaue Färbung ins Gelbliche umschlägt; ist die Aufschließung unvollkommen gewesen, so ist ein stärkerer Jodzusatz erforderlich, bevor die Gelbfärbung eintritt.

5. Zur genaueren Kontrolle wird die vergorene Maische auf Dextrin und Pentosane untersucht, indem 250 *cm*³ der auf 500 *cm*³ verdünnten, vergorenen Maische zunächst auf 50 *cm*³ eingedampft, mit Salzsäure invertiert und mit *Fehling*scher Lösung behandelt werden. Bei der Untersuchung von Reis fand *Boidin* nur 0·2% an Dextrin und Pentosane, also so geringe Mengen, daß sie vernachlässigt werden können.

100 *g* reine wasserfreie Stärke geben nach den Versuchen von *Boidin* nach dem beschriebenen Verfahren 67 *cm*³ Alkohol. Diese Zahl ist aber so hoch, daß sie nachgeprüft werden muß.

Wird bei der Aufschließung der Stärke ein höherer Druck oder eine größere Säuremenge angewendet, so verringert sich die Alkoholausbeute und die vergorene Maische zeigt sowohl bei direkter Behandlung mit *Fehling*scher Lösung als auch nach voraufgegangener Inversion mittelst Salzsäure größere Mengen von unvergorenen Kohlenhydraten bzw. Pentosanen an.

Man soll demnach einen möglichst geringen Druck und auch möglichst geringe Säuremengen anwenden, so daß sie eben hinreichen, die Aufschließung zu vollenden.

Lösliche Stärke, Amylopektin und Amylose.

Darstellung der löslichen Stärke nach *Wolff* und *Fernbach*.[1])

Man behandelt Stärke eine ½ Stunde mit 1‰iger Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur, wobei ein Teil der vorhandenen Kalksalze gelöst wird. Nach vollständigem Auswaschen wird die Masse bei 30° getrocknet und 8 bis 10 Tage auf 46° oder 1½ Stunden auf 100—110° erhitzt. Dabei bleibt die äußere Form der Körner normal. Wird die Darstellung bei 46° vorgenommen, so entstehen weder reduzierende Zucker, noch Dextrine; hat man bei der Darstellung auf 100° erhitzt, so bilden sich Spuren der erwähnten Substanzen.

Methode zur Darstellung von Amylopektin nach *Gatin-Gruzewska*.[2])

Man rührt 10 *g* reine Kartoffelstärke in 500 *cm*³ 1%ige Natronlauge ein und läßt stehen. Dabei schwellen die Kornumhüllungen auf und die

---

[1]) *J. Wolff* et *A. Fernbach*, De quelques circonstances qui influent sur l'état physique de l'amidon. Comptes rendus. **150**. 1403—1406 (1905).

[2]) *Z. Gatin-Gruzewska*, Sur la composition du grain d'amidon. Comptes rendus. **156**. 540—542 (1908).

eingeschlossene Amylose, die sich rasch löst, zieht viel Wasser an. Unter der Einwirkung des osmotischen Druckes, der sich in den Körnern entwickelt, platzen die Kornumhüllungen und die gelöste Amylose kann ungehindert heraustreten. Ist die Einwirkung der verdünnten Lauge vollendet, so neutralisiert man die auf 1 *l* verdünnte Flüssigkeit mit Essigsäure. Dabei schrumpfen die geschwollenen Amylopektinumhüllungen wieder zusammen. Man setzt noch 1 *l* Wasser zu und läßt 24 Stunden stehen. Die leeren Amylopektinkornumhüllungen setzen sich dabei ab und die Flüssigkeit enthält die Amylose. Das Amylopektin wird abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Man kann leicht unter dem Mikroskope erkennen, ob die Trennung der beiden Substanzen gelungen ist, indem die Amylose mit Jod eine rein blaue, das Amylopektin dagegen eine violettblaue Färbung gibt. Das so erhaltene Amylopektin beträgt 40—45% der angewandten Stärke. Jede Kornumhüllung ist aus einer ganzen Reihe aufeinander gelagerter Säckchen zusammengesetzt. Letztere sind unlöslich in kaltem Wasser, in warmem Wasser quellen sie auf und bilden einen Kleister, der die Erscheinung der Rückbildung nicht zeigt und im überhitzten Wasser sich verflüssigt.

Charakteristische Eigenschaften des Amylopektins.

Trockenes Amylopektin löst sich nicht in kaltem Wasser. In der Wärme bildet es einen Kleister und bei 130° bildet es mit Wasser eine opalisierende Flüssigkeit. Beim Abkühlen derselben erfolgt keine Ausscheidung eines Niederschlages. Wird die Flüssigkeit dialysiert, so setzen sich auf dem Boden des Dialysiergefäßes Körner, die sich in verdünnte Schwefelsäure und Salpetersäure nicht lösen, gegen Alkali resistent sind und mit Jod keine Färbung geben. Diese Körner gehen beim Erwärmen mit Salzsäure in Lösung. Wahrscheinlich sind diese Körner Kalksalze. Aus diesem Befund schließt *Gatin-Gruzewska*[1]), daß die Kornumhüllungen der Stärke Komplexe aus Amylopektin und Mineralsubstanzen sind. Wird das Amylopektin durch Dialyse gereinigt, so geht es in kaltem Wasser vollständig in Lösung.

Bereitet man eine Lösung von Amylopektin bei 140° und läßt sie gefrieren, dann wieder auftauen, so resultiert eine opalisierende Flüssigkeit, ohne Spur eines Niederschlages. Das elektrische Leitungsvermögen der Lösung beträgt 0·00014. Die Flüssigkeit färbt sich mit Jod violettblau.

Eine Lösung von dialysiertem Amylopektin in kaltem Wasser gibt unter den gleichen Bedingungen eine Flüssigkeit, deren elektrisches Leitungsvermögen 0·00003 ist und mit Jod ebenfalls eine violettblaue Färbung erzeugt.

Die mit überhitztem Wasserdampf erhaltenen Lösungen (Pseudolösungen des Amylopektins) zeigen eine hohe Viskosität. Alkalien verwandeln die

[1]) *Z. Gatin-Gruzewska,* Quelques propriétés charactéristiques de l'Amylose et de l'Amylopectin. Comptes rendus. **152**. 785—789 (1911).

Amylopektinumhüllungen in eine feinkörnige fadenförmige Masse, die in Gegenwart von Alkaliüberschuß und Wasser nach erfolgter Neutralisierung der Flüssigkeit opalisierende Lösungen bildet. Das Drehungsvermögen dieser Lösungen in einer Konzentration von 0·178 *g* in 100 *g* der Lösung beträgt $[\alpha]_D^{20} = +221^0$. Das elektrische Leitungsvermögen derselben Lösung ist 0·00003. Durch Jod wird Amylopektin violett gefärbt. Verzögert sowohl im natürlichen Stärkekorn, wie auch im Kleister die Rückbildung der Amylose.

Das Amylopektin wird unter dem Einfluß der aktivierten Amylase oder des Pankreassaftes sehr langsam hydrolysiert unter Bildung von Maltose und Dextrinen. Es löst sich im Malzauszug leicht.

Darstellung der Amylose nach *E. Roux.*[1])

Man läßt einen Stärkekleister sich zurückbilden und behandelt bei niedriger Temperatur mit Malzauszug. Um die weniger widerstandsfähigen Substanzen der Amylosereihe zu entfernen, behandelt man jetzt die Masse zweimal nacheinander mit reinem Wasser bei 120°, dann wieder mit Malzauszug bei 56°. Der Rückstand wird abgesaugt und unter vermindertem Druck getrocknet.

Darstellung der Amylose nach *Z. Gruzewska* (siehe Darstellung von Amylopektin, wobei auch Amylose gewonnen wird).

Charakteristische Eigenschaften der Amylose.

Die getrocknete Amylose löst sich nur wenig in kaltem Wasser. Sie löst sich vollständig unter Bildung von opalisierenden Flüssigkeiten nach einstündigem Erhitzen mit Wasser auf 150°. Nach dem Abkühlen scheidet sich nach einiger Zeit aus der Flüssigkeit ein weißer Niederschlag.

Wird die Amylose in sterilen Kollodiumsäckchen bei 50° dialysiert, so wird sie in kaltem Wasser vollkommen unlöslich.

Läßt man eine 0·5%ige zunächst eine Stunde auf 140° erhitzte Amyloselösung gefrieren und taut die gefrorene Masse auf, so befindet sich am Boden des Gefäßes ein weißer, flockiger und unter dem Mikroskop faserig aussehender Niederschlag. Die elektrische Leitungsfähigkeit der filtrierten Flüssigkeit beträgt 0·0004; sie enthält 1·8 *g* Trockensubstanz im Liter und wird durch Jodlösung rein Blau gefärbt.

Eine 1%ige Lösung, die gleiche Teile Amylose und Amylopektin enthält, scheidet unter den gleichen Bedingungen einen kompakten, weißen faserigen Niederschlag. Die filtrierte Flüssigkeit ist vollkommen klar. Sie gibt mit Jodlösung nur eine schwache Färbung. Das elektrische Leitungsvermögen beträgt 0·00014; der Trockengehalt 0·300 *g* im Liter.

Wird Amylose, die durch Dialyse bei 50° in Kollodiumsäckchen in kaltem Wasser unlöslich geworden ist, eine Stunde mit Wasser auf 140°

[1]) *Eugène Roux,* Sur le transformation de l'amylocellulose en amidon. Comptes rendus. **140**. 440—442 (1905).

erhitzt und die 0·5%ige Lösung dem Gefrierungsvorgang ausgesetzt, so enthält die vollkommen klare Flüssigkeit einen faserigen Niederschlag. Die Lösung färbt sich mit Jodreagens überhaupt nicht und zeigt ein elektrisches Leitungsvermögen von 0·00008.

Die nach dem Verfahren von *Gatin-Gruzewska* dargestellte Amyloselösung (siehe bei Amylopektin) zeigt die Erscheinung der Retrogradation nur dann, wenn sie zuvor erhitzt war. Wird sie getrocknet, wobei sie ein feines Pulver bildet, so löst sie sich nur teilweise in kaltem Wasser, gänzlich in Wasser von 100—120°, wobei opalisierende Flüssigkeiten entstehen. Die so bereitete Amylose geht rasch in Lösung in Berührung mit kleinen Mengen Alkali. Das Drehungsvermögen der Lösungen in einer Konzentration von 0·642 *g* in 100 *g* der Lösung beträgt: $[\alpha]_D^{20} = +182·4°$. Das elektrische Leitungsvermögen derselben Lösung ist 3×10^{-5}. Amylose ist in Malzauszug unlöslich. In gelöstem Zustande wird sie durch Malzauszug schon bei niedriger Temperatur vollständig in Maltose verwandelt. Unter dem Einfluß des Pankreassaftes vom Hund gibt sie Maltose und retrogradierte Amylose.

Zum qualitativen Nachweis der Amylose setzt man zu der untersuchenden Lösung konzentriertes Alkali und säuert dann mit Salzsäure an. Auf Zusatz von Jod entsteht jetzt Blaufärbung auch bei Anwesenheit von geringen Mengen.[1])

Kohlenhydrate der Inulingruppe.

Darstellung von Inulin nach *Kiliani*.[2])

Gut ausgewaschene und zerkleinerte im Herbst gesammelte Knollen aus Dahlie (Dahlia variabilis) sowie von Inula Helenium werden mit dem gleichen Volumen Wasser unter Zusatz von Kalziumkarbonat gekocht. Das Kalziumkarbonat verhindert die Hydrolyse des Inulins durch die Pflanzensäuren. Man wiederholt das Auskochen, bis eine Probe der Flüssigkeit mit Alkohol keinen Niederschlag mehr gibt. Die abgegossene gelbbraune Flüssigkeit wird durch Kolieren von den mitgerissenen Fasern befreit und (je nach ihrer Konzentration direkt oder nach dem Eindampfen) in einer Kältemischung zum Gefrieren gebracht. Nach dem Auftauen hat sich ein dunkel gefärbter Niederschlag abgesetzt, von welchem die überstehende Flüssigkeit abgehoben wird. Der Niederschlag wird in kochendem Wasser gelöst, die Flüssigkeit heiß filtriert und abermals zum Gefrieren gebracht. Nach drei- bis viermaliger Wiederholung dieser Operation ist der Inulinniederschlag schon weiß, während die Mutterlauge noch ziemlich stark gelb gefärbt ist. Das Verfahren wird fortgesetzt, bis die wässerige Lösung des in der Kälte ausgeschiedenen Inulins vollkommen farblos wird. Klar ist die Lösung nie, weil sie immer schwach opalisiert. Die Lösungen werden jetzt mit Alkohol gefällt und mit Alkohol so oft wieder behandelt, bis das Reduktionsvermögen des

---

[1]) *L. Maquenne, A. Fernbach* und *J. Wolff,* Comptes rendus. 138. 49 (1904).

[2]) *Heinrich Kiliani,* Über Inulin. *Liebig*s Annalen. 205. 147 (1880).

in Kalilauge gelösten Inulins gegen *Fehling*sche Lösung völlig verschwunden ist, d. h. der beigemengte Zucker entfernt ist. Endlich folgt eine Behandlung mit einem Gemisch von Alkohol und Äther, alsdann Trocknen unter vermindertem Druck.

Darstellung der Kohlenhydrate der Inulingruppe durch fraktionierte Fällung mit Barytwasser und Alkohol.[1])

Der Saft aus Topinamburknollen wird in der Wärme mit Bleiazetatlösung gefällt, aus dem Filtrat das Blei mit verdünnter Schwefelsäure entfernt, und dann dem Filtrate ein Überschuß von konzentrierter heißer Barytlösung zugesetzt. Es scheidet sich ein inulinreicher Niederschlag. Man wäscht denselben mit kaltem Barytwasser, löst ihn in 6—8 Teilen heißem Wasser und zerlegt ihn mit Kohlensäure, dann versetzt man das Filtrat mit einem Überschuß von kaltem gesättigten Barytwasser. Es bildet sich ein Niederschlag, der an Inulin zwar reich ist, doch mehr weniger die übrigen Kohlenhydrate der Inulingruppe enthält. Das Filtrat, das hauptsächlich die letzteren Substanzen enthält, wird mit Alkohol fraktioniert gefällt. Die Niederschläge werden mit Kohlensäure zerlegt und mit Barytwasser versetzt. Die Lösungen, die mit kaltem Barytwasser keinen Niederschlag geben, werden beiseite gestellt, da sie kein Inulin enthalten, dagegen die Niederschläge zur Inulindarstellung gesammelt. Man wiederholt das Zerlegen und Wiederfällen der inulinhaltigen Niederschläge so oft, als die Filtrate mit Barytwasser vollkommen ausgefällt werden, zum Zeichen, das nur Inulin in den Lösungen vorhanden war. Jetzt wird der Niederschlag mit Kohlensäure zerlegt, das Filtrat gekocht, mit wenig sehr reiner Tierkohle behandelt und das Filtrat mit $^1/_3$ Volum 95⁰igem Alkohol versetzt. Nach kurzer Zeit setzt sich das Inulin rein ab. Man wäscht es mit 60⁰igem, dann mit 95⁰igem Alkohol und trocknet über Schwefelsäure.

Zur Isolierung des Pseudoinulins werden die Mutterlaugen nach der Abscheidung des Inulinbaryums eingedampft und der Rückstand in reinstem Barytwasser gelöst. Man versetzt diese Lösung mit starkem Barytwasser, bis ein starker Niederschlag entsteht. Ein Überschuß des Barytwassers ist zu vermeiden, da sonst der Niederschlag wieder in Lösung geht. Man zerlegt diesen Niederschlag mit Kohlensäure und versetzt das Filtrat mit gleichen Mengen 95⁰/₀igen Alkohols.

Um die übrigen Kohlenhydrate zu gewinnen, behandelt man das Filtrat der ersten Barytfällung fraktioniert mit Alkohol von wachsender Konzentration.

Aus jeder Fraktion wird eine Probe mit Kohlensäure zerlegt und das Filtrat polarimetrisch untersucht. Die ersteren Fraktionen drehen stark nach rechts, nachher nimmt die Drehung ab, schließlich schlägt sie in

[1]) *M. Tauret,* Sur l'inuline, la pseudo-inuline et l'inulenin. Bulletin de la société chimique de France [3]. **9**. 200—207 (1893); Sur l'inuline. Bulletin de la société chimique de France [3]. **9**. 227—234 (1893); Sur les hydrates de carbone du topinambour. Bulletin de la société chimique de France [3]. **9**. 622—629 (1893).

Zusammenstellung der wichtigsten Eigenschaften der Kohlenhydrate der Inulingruppe aus Topinamburknollen.

Inulin	Pseudoinulin	Helianthenin	Inulenin	Synanthrin
Aus wässerigen Lösungen scheidet sich in Körner von 0·002—0·0005 *mm*, aus alkoholischen Lösungen in etwas größeren Kügelchen von 0·008 *mm* ab. 1 Teil der wasserfreien Substanz löst sich bei 15° in 10.000 Teilen Wasser, in 3—4 Teilen kochenden Alkohols von 30—40°, in 55 Teilen kochenden Alkohols von 55°, in mehr als 2000 Teilen kochenden Alkohols von 60°. Löslich in Glyzerin beim Erwärmen, in Essigsäure, Ammoniak, Kupferoxydammoniak und allmählich in Nickeloxydammoniak. Schmelzpunkt gegen 178° unter Zersetzung $[\alpha]_D = -38·8°$. Gibt bei der Hydrolyse 12 Teile d-Fruktose auf etwa 1 Teil d-Glukose. Wird durch kaltes Barytwasser vollständig gefällt.	Unregelmäßige, 0·002 bis 0·0005 *mm* große Körner aus Wasser; größere Kügelchen aus Alkohol. Schmelzpunkt gegen 175° unter Zersetzung. Sehr leicht löslich in heißem Wasser, leicht in verdünntem Alkohol. Bei 10—15° löslich in 300—400 Teilen Wasser, bei 22° in 90 Teilen. Löslich in 6 Teilen heißen 60%igen Alkohols, unlöslich in der Kälte in demselben. Leicht löslich in Alkalien und in Barytwasser $[\alpha]_D = -32·2°$ in etwa 10%iger wässeriger Lösung, nach dem Erhitzen mit verdünnten Säuren: $-85·6°$. Gibt bei der Hydrolyse d-Fruktose und d-Glukose.	Kugelige Aggregate mikroskopischer Nadeln. Schmelzpunkt gegen 176°. Löslich in 1 Teil Wasser bei gewöhnlicher Temperatur, in 7·5 Teilen 60%igen, 28 Teilen 70%igen, 70 Teilen 74%igen, 144 Teilen 80%igen und 300 Teilen 84%igen Alkohols bei 22°. $[\alpha]_D = -23·5°$ in 10%iger wässeriger Lösung; wird auf Zusatz von verdünnten Säuren wegen der Hydrolyse auf $-70·3°$ erhöht. Die wässerige Lösung wird durch Barytwasser und Bleiessig nicht gefällt.	Kristallinisches Produkt aus feinen doppeltbrechenden Nadeln. Wasserfrei löst sich in einigen Teilen heißen Wassers, kristallisiert aber unter Aufnahme von Wasser größtenteils wieder aus. Löslich in 9 Teilen 70%igen siedenden Alkohols, unlöslich in kaltem 70%igen Alkohol. Löslich in 35 Teilen 30%igen und 245 Teilen 50%igen Alkohols bei gewöhnlicher Temperatur. $[\alpha]_D = -29·6°$ in 6·6%iger wässeriger Lösung; nach der Behandlung mit Säuren $-83·6°$. Ein Überschuß von Barytwasser erzeugt in der wässerigen Lösung keinen Niederschlag.	Amorphe Substanz. Schmelzpunkt gegen 170°. Löst sich in jedem Verhältnis in Wasser, löslich in 10 Teilen Alkohol von 84% bei 22°. $[\alpha]_D = -17°$ in 8%iger wässeriger Lösung. Bei der Säurehydrolyse entsteht d-Fruktose und d-Glukose.

Rechtsdrehung um. Durch Wiederholung der Fraktionierung mit Barytwasser und Alkohol erhält man einerseits eine Fraktion, die eine Drehung von $[\alpha]_D = +66^0$ zeigt, andrerseits eine Fraktion, die $[\alpha]_D = -17^0$ und mehr zeigt. Die rechtsdrehenden Fraktionen enthalten in der Hauptsache nach Rohrzucker, während die linksdrehenden Fraktionen ein Gemisch der Kohlenhydrate der Inulingruppe enthalten. Man vereinigt die linksdrehenden Fraktionen und behandelt sie mit Kohlensäure, dann wird das Filtrat gekocht, filtriert und zur Trockne verdampft. Man zieht den Rückstand mit zehnfacher Menge 84⁰igen kochenden Alkohols, wobei das Helianthenin mit wenig Inulenin in Lösung geht. Beim Erkalten scheiden sich beide aus. Um sie zu trennen, bedient man sich der verschiedenen Löslichkeit der beiden Kohlenhydrate in 60⁰igem kalten Alkohol, in welchen das Inulenin 100mal schwerer löslich ist als das Helianthenin.

Man schüttelt demnach das vorher getrocknete Gemisch der beiden Kohlenhydrate mit 10 Teilen Alkohol von 60⁰ und versetzt das Filtrat mit der gleichen Menge 95⁰igen Alkohols. Dabei scheidet sich das Helianthenin in reinem Zustande ab.

Das in 84⁰igem Alkohol unlösliche Produkt ist das Synanthrin, das in amorphem Zustande beim Verdampfen der Lösung zur Trockne erhalten wird. Zuweilen enthält das Produkt Rohrzucker. Letzterer wird durch wiederholtes Fraktionieren mit Barytwasser und Alkohol entfernt, wobei das Drehungsvermögen der Lösungen auf $[\alpha]_D = -17^0$ steigen muß. Oft erhält das so erhaltene Synanthin noch geringe Mengen von Helianthenin. Durch Behandeln des Präparates mit 10facher Menge kalten 84⁰igen Alkohols bleibt das Helianthenin ungelöst zurück.

Ein Topinamburpreßsaft, der ein spez. Gew. 1·141 zeigte, enthielt im Liter 252 *g* Kohlenhydrate, die nach dem angegebenen Verfahren getrennt, folgende Mengen an verschiedenen Substanzen gaben:

Inulin	52·5 *g*
Pseudoinulin	0·6 „
Inulenin	24·0 „
Helianthenin	14·4 „
Synanthrin	122·0 „
Rohrzucker	30·0 „
Fruktose und Glukose	9·0 „
	252·5 *g*

Mikrochemischer Nachweis des Inulins[1]), bzw. der Kohlenhydrate der Inulingruppe.

In den lebenden Zellen ist das Inulin nicht wahrnehmbar, da es im Zellsaft gelöst ist. Unter gewissen Bedingungen läßt sich aber das Inulin

[1]) *O. Tunmann,* Zur Mikrochemie des Inulins. Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft. **20**. 577—585 (1910).

in diesem Falle ebenfalls nachweisen, nämlich dann, wenn es in beträchtlichen Quantitäten zugegen ist, wie in den Kompositenwurzeln des Herbstes. Bringt man ein derartiges Präparat lebenden Materials unter Deckglas in einen kleinen Tropfen Wasser, so bemerkt man fast immer größere und kleinere, farblose, glänzende Tröpfchen in den Zellen auftreten, welche bisweilen ineinander fließen und sich vergrößern. Bei diesem Vorgang bleiben die Plasmakörper lebend. Bei Zusatz von weiteren Wassertropfen schwinden die Inulintröpfchen wieder, da sie in viel Wasser sich lösen.

Das Inulin scheidet sich bei der Einwirkung von Alkohol auf Präparate frischen Materiales in Form eines feinen Kristallmehles aus. Bringt man Pflanzenteile eine Woche oder für längere Zeit in 70%igen Alkohol oder in Glyzerin und stellt aus diesem Material erst die Präparate her, so findet man das Inulin in mehr oder weniger gut ausgebildeten, den Zellwänden anliegenden kugeligen Sphärokristallen. Man hat im allgemeinen ähnliche Ausscheidungsformen wie beim Hesperidin. Zuweilen sind die Sphärokristalle nicht gut ausgebildet. Um nun die in konzentrierten Schichten radial gestellten Trichite besser zu erkennen, pflegt man Salpetersäure zuzusetzen. Den gleichen Effekt erzielt man mit Chloralhydratlösung, die überdies die Kristalle nicht so schnell wie Salpetersäure löst.

Die Inulinausscheidungen in getrockneten Pflanzen sehen wie glasige Massen, mit scharfen Kanten und einem muscheligen Bruch aus. Sie fallen aus den angeschnittenen Zellen beim Präparieren heraus und haben bei oberflächlicher Durchmusterung einen amorphen Habitus. Bei genauer Betrachtung, besonders nach der Behandlung mit Chloralhydratlösung oder nach längerem Verweilen der Präparate in wenig Wasser (unter Deckglas) kann man die Inulintrichite unterscheiden, die von anderen Substanzen verkittet sind.

Sphärokristalle von Kalziumphosphat können nach ihrer Form mit Inulin verwechselt werden. Erstere lösen sich in Wasser viel leichter als Inulin, so daß sie in Wasserpräparaten nach einiger Zeit nicht oder nur in ihren Umrissen sichtbar sind. Auch klärt ein Zusatz von Schwefelsäure und die Ammoniummolybdatreaktion sofort die Nähe der Kalziumsphärite auf. Hesperidin und Sekrete können ebenfalls Anlaß zur Verwechslung mit Inulin geben. Hesperidin trifft man in wechselnden Mengen in den vegetativen Teilen vieler Lobeliaceen und Kompositen an, und zwar in gleicher Abscheidungsform. Beim Erwärmen mit Wasser oder Glyzerin gehen aber die Polysaccharide der Inulingruppe in Lösung, während Hesperidin ungelöst zurückbleibt. Auch in verdünnten Mineralsäuren ist Hesperidin unlöslich. Eine Verwechslung des Inulins mit Sekreten ist bei Kompositenwurzeln keineswegs ausgeschlossen. Durch das schneidende Messer wird ziemlich regelmäßig harzig-öliges Sekret aus den schizogenen Gängen auf und in parenchymatische Zellen übertragen und haftet dann mit Vorliebe an den Wandungen in Gestalt kleiner kugeliger Gebilde. Die Diagnose ist leicht, denn die Sekrete lösen sich bei wiederholtem Durchsaugen von Alkohol. Außerdem ist es für die Sekrete der Kompositenwurzeln, falls sie mehr

oder weniger ungefärbt vorliegen, charakteristisch, daß sie sich mit Jodjodkalium und mit Chlorzinkjod braun bis rubinrot färben.

Zum mikrochemischen Nachweis kleiner Inulinmengen eignen sich einige Reaktionen mit Phenolen. Doch müssen vor der Prüfung die übrigen Kohlenhydrate und Alkaloide möglichst entfernt werden.

Zu dem Zwecke werden die Schnitte auf eine Woche in Weinsäurealkohol gelegt, wobei die Alkaloide entfernt werden, dann kommen sie auf 6 bis 10 Wochen in Alkohol, der zweimal erneuert wird. Dabei büßt das Inulin seine Wasserlöslichkeit in hohem Maße ein[1]), so daß es bei der späteren Behandlung mit Wasser ungelöst bleibt. Nun werden die Schnitte in Alkohol mit annähernd gleichen Teilen Wasser verdünnt und schließlich 10 bis 20 Minuten mit Wasser gut ausgewaschen. Dadurch werden die anwesenden Zuckerreste entfernt. Der Alkoholbehandlung kann man eine solche mit Äther oder Chloroform ebenfalls voranschicken.

Jetzt verwendet man in den Schnitten zum chemischen Nachweis des Inulins ein Reagens aus 1 Teile Pyrogallol, Resorzin oder Hydrochinon, 50 Teilen Alkohol und 50 Teilen Salzsäure. Die Schnitte werden auf dem Objektträger direkt in das Reagens eingetragen und nach dem Auflegen des Deckglases gelinde erwärmt (nicht gekocht). Unter diesen Bedingungen gibt Inulin mit Hydrochinin eine orangerote, mit Pyrogallol eine intensiv violettrote, mit Resorzin eine zinnoberrote Färbung. Die Hydrochinonlösung bewährt sich zum Nachweis am wenigsten, da bei geringen Mengen von Inulin die Färbung nur gelb und nicht charakteristisch genug ist. Hingegen ist die violettrote Färbung mit Pyrogallol und die zinnoberrote mit Resorzin selbst bei Spuren von Inulin sehr stark. Die Reaktion wird durch sämtliche Kohlenhydrate gegeben, die bei der Hydrolyse d-Fruktose abspalten.

Bei dieser Behandlung erfolgt noch keine Hydrolyse bzw. Farbenreaktion der eventuell vorhandenen Stärkekörner. Sie bleiben völlig ungefärbt, quellen auf, aber die Kornumhüllungen werden noch nicht beschädigt.

Zellulosegruppe.

Darstellung von Zellulose.

Für die Darstellung von Zellulose aus Pflanzenteilen können die bei der Bestimmung der Zellulose beschriebenen Methoden angewendet werden. Hier soll nur die Darstellung aus Tunikaten beschrieben werden, die etwas verschieden von den üblichen Zellulosedarstellungen ist.

Darstellung von Tunikatenzellulose aus Tunikatenmäntel.[2])

Die frischen Tunikatenmäntel von Phallusia mammillaris werden zunächst 2 Tage in 1%ige Salzsäure eingelegt, dann mit warmem Wasser

---

[1]) *H. Leitgeb,* Über die durch Alkohol in Dahliaknollen hervorgerufenen Ausscheidungen. Botanische Zeitung. **45**. 129 (1887).

[2]) *E. Winterstein,* Zeitschr. f. physiologische Chemie. **18**, 43—56 (1894). — *Emil Abderhalden* und *Géza Zemplén.* Partielle Hydrolyse der Tunikatenzellulose. Bildung von Zellobiose. Zeitschr. f. physiologische Chemie. **72**. 58—62 (1911).

gewaschen und von den verschiedenen Verunreinigungen mechanisch möglichst befreit. Nach dem Verschwinden der Chlorreaktion in den Waschwässern werden die Mäntel in Alkohol eingelegt, nach 24 Stunden koliert, unter 200 Atmosphären Druck ausgepreßt, wieder in Alkohol gelegt, das Auspressen unter 250 Atmosphären Druck wiederholt und dann das Rohprodukt bei 80—90° 3 Stunden lang getrocknet. Die fein zermahlene Masse (45 *g*) wird jetzt mit 1%iger Natronlauge (2200 *cm*³) 2 Stunden auf 90° erwärmt, dann bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion durch Dekantieren ausgewaschen, nunmehr mit 2%iger Schwefelsäure (2200 *cm*³) 2 Stunden auf 90° erwärmt, vollständig durch Dekantieren mit Wasser ausgewaschen, darauf das Wasser durch Alkohol verdrängt und das Produkt nach scharfem Absaugen im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Ausbeute 19 *g*.

Qualitativer Nachweis der Zellulose.

Löslichkeit. Chemisch nicht veränderte Zellulose ist in den gewöhnlichen Lösungsmitteln und in verdünnten Reagenzien unlöslich, dagegen löslich in Kupferoxydammoniak (*Schweizers* Reagens). Es wird bereitet durch Fällen einer mit Salmiak versetzten Kupfersulfatlösung mit einem geringen Überschuß von Natronlauge und Lösen des sorgfältig gewachsenen Niederschlages in konzentriertem Ammoniak. Sehr wirksame Kupferoxydammoniaklösungen werden erhalten durch Lösen von oxydierten Kupferabfällen in Ammoniak. Man verwendet dazu zweckmäßig 2 lange Röhren, die unten ausgezogen und mit einem Hahn versehen sind, und die man senkrecht in einem Stativ befestigt. Die Röhren werden mit sehr dünn ausgewalztem Kupferband locker gefüllt. Die eine wird mit konzentriertem Ammoniak übergossen, in die andere Luft eingeleitet, um die Oxydation des Kupfers zu beschleunigen. Nach Verlauf einer halben Stunde läßt man die Lösung abfließen und gießt sie in die andere Röhre und läßt stehen. Unterdessen leitet man Luft in die leere Röhre ein. Kühlt man während der Behandlung mit Ammoniak die Masse, so geht mehr Kupfer in Lösung.

Das Lösungsvermögen des *Schweizer*schen Reagens wechselt sehr nach der Beschaffenheit und der Vorbehandlung der Zellulose. Man erhält ohne Schwierigkeit ohne Vorbehandlung der Zellulose 4—5%ige Lösungen, nach Vorbehandlung mit 3%iger Soda oder 5%iger Ätznatronlösung viel stärkere, 8—10%ige Zelluloselösungen.

Die Abscheidung der Zellulose aus ihren Kupferoxydammoniaklösungen kann geschehen durch Säuren, Alkalien und Salze. Die Lösung zersetzt sich auch durch längeres Stehen in lose verschlossenen Gefäßen, wenn das Ammoniak entweichen kann. Dabei fällt außer Zellulose Kupferhydroxyd aus. Die Lösungen werden ferner gefällt durch entwässernde Agenzien, Alkohol, außerdem Salze und Zucker.

Darstellung von einer Kupferoxydammoniaklösung konstanter Zusammensetzung: „Normalkupferoxydammoniaklösung."[1]) Die Herstellung von Kupferoxydammoniaklösungen nach den beschriebenen Methoden ist ziemlich einfach, aber bestimmte Gehalte sind schwierig zu erzielen. Leichter erhält man eine „Normalkupferoxydammoniaklösung" durch Auflösen des basischen Kupfersulfates, welches aus Kupfervitriollösung mit Ammoniak gefällt wird, in Ammoniak von 0·900 spezifisches Gewicht bis zur Sättigung.

59 *g* Kupfersulfat, entsprechend 15 *g* Kupfer, werden in etwa 3 *l* heißem Wasser gelöst und mit Ammoniak gefällt, so daß kein Kupfer in Lösung bleibt; ein etwaiger kleiner Überschuß von Ammoniak wird mit Schwefelsäure neutralisiert. Der hellgrüne kochbeständige Niederschlag wird dekantiert und durch ein Faltenfilter mit heißem Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat schwefelsäurefrei ist, was rasch vonstatten geht, dann mit dem Filter auf Papier etwas abgetrocknet, als dicke Paste in eine Literflasche gebracht und mit eingekühltem Ammoniakwasser von 0·900 spezifisches Gewicht unter öfterem Durchschütteln zum Liter gelöst. Ein wenig Kupfersalz bleibt ungelöst, auch scheiden sich nach einiger Zeit tiefblaue Nädelchen von Kupferoxydammoniak aus. Die nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur durch Asbest filtrierte Lösung enthält 13—14 *g* Kupfer und rund 200 *g* Ammoniak im Liter. Zwei Lösungen verschiedener Herstellung enthielten *a)* 13·1 *g* Kupfer und 203 *g* Ammoniak, *b)* 14·1 *g* Kupfer und 202 *g* Ammoniak. Man bestimmt das Ammoniak und Kupferoxyd zusammen durch Filtrieren mit n-Schwefelsäure und Methylorange, und das Kupfer allein elektrolytisch. Diese normale Kupferoxydammoniaklösung löst auch von schwerlich löslicher Zellulose bis 2 *g* in 100 cm^3 auf.

Das hellgrüne basische Kupfersulfat, welches bei 120° bis zum konstanten Gewichte getrocknet 66—69% CuO und 17—20% SO_3 enthält, löst sich trocken in Ammoniak schwieriger auf als die frische Paste, weshalb letztere anzuwenden ist.

Weitere Lösungsmittel für Zellulose.[2])

Kupferoxydäthylendiaminlösung besitzt in hohem Maße die Fähigkeit, Zellulose aufzulösen. Dabei ist es zweckmäßig, die Zellulose zuerst mit der Diaminlösung zu durchtränken und dann erst das nötige Kupferhydroxyd hinzuzufügen. Das Lösungsvermögen der Flüssigkeit übertrifft dasjenige des *Schweizer*schen Reagens. Schon eine 6%ige, d. h. etwa 1·5 halbnormale mit Kupferhydrat gesättigte Äthylendiaminlösung löst beträchtliche Mengen Zellulose, während der Prozentgehalt an Ammoniak in der *Schweizer*schen Flüssigkeit ein viel höherer sein muß, sofern sie zur Auf-

---

[1]) *H. Ost*, Die Viskosität der Zelluloselösungen. Zeitschr. f. angew. Chemie. **24**. 1893 (1911).

[2]) *Wilhelm Traube*, Über das Verhalten einiger Metallhydrate zu Äthylendiaminlösungen. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **44**. 3319—3324 (1911).

lösung der Zellulose dienen soll. Aus den Lösungen in Kupferoxydäthylendiamin wird die Zellulose durch Säuren, Alkalien, eventuell unter Zusatz von Zucker und ähnlichen Stoffen in der Wärme oder Kälte wiedergefällt.

Zellulose ist in Nickeloxydammoniak unlöslich (Unterschied von natürlicher Seide).

Ein weiteres Lösungsmittel ist nach *Cross* und *Bevan* [1]) Chlorzink. 4—6 Teile wasserfreies Chlorzink werden in 6—10 Teilen Wasser gelöst und 1 Teil Zellulose zugerührt, bis diese gleichmäßig durchtränkt wird. Jetzt digeriert man bei mäßiger Wärme, bis die Zellulose gallertartig geworden ist, dann wird die Reaktion durch Erhitzen auf dem Wasserbade unter zeitweisem Umrühren und Ersatz des verdampfenden Wassers zu Ende geführt, wobei ein homogener Sirup entsteht. Diese Lösung koaguliert schon beim Verdünnen mit Wasser, wobei ein Gemenge von Zellulose und Zinkoxyd ausfällt. Säuren, Salzlösungen und Alkohol bewirken ebenfalls die Ausfällung der gelösten Zellulose.

Sehr rasch löst sich Zellulose in einem Gemisch von Chlorzink und Salzsäure. Man verwendet dazu ein Gemisch von Chlorzink in seinem zweifachen Gewicht 40%iger Salzsäure, welches die Zellulose schon in der Kälte löst. Dabei wird sie aber schon teilweise hydrolysiert. Ähnlich wirkende Lösungsmittel sind Antimontrichlorid in wenig Wasser oder in Gegenwart von Salzsäure, dann Merkurichlorid, Bismuthtrichlorid und Stannochlorid in Gegenwart von Salzsäure.[2])

Konzentrierte Schwefelsäure löst Zellulose bei gewöhnlicher Temperatur rasch zu einer farblosen Flüssigkeit auf; dabei erleidet aber die Zellulose eine tiefgreifende Hydrolyse.

Nachweis der Zellulose.

Verhalten gegen Chlorzinkjodlösung. Das Reagens wird bereitet durch Zusatz von 1 Teil 60%iger Lösung von Jodkalium zu 9 Teilen einer Chlorzinklösung (spez. Gew. 2·0) und Sättigen des Gemisches mit Jod. Die Flüssigkeit färbt die Zellulose momentan blau bis blauviolett an.

Verhalten gegen Jod und Schwefelsäure. Man befeuchtet die zu prüfende Substanz mit einer 1%igen Lösung von Jodkalium, in der Jod bis zur Sättigung aufgelöst war, dann wäscht man den Überschuß des Reagens aus und setzt nun einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu. Dabei tritt Blau- bzw. Braunfärbung der Substanz ein.

Partielle Hydrolyse der Zellulose. Bildung von Zellobiose.[3])

Darstellung von Oktaazetylzellobiose. 60 *g* Zellulose, die sich in einem $1\frac{1}{2}$ *l* fassenden Rundkolben befinden, werden mit einem Gemisch

[1]) *Cross* und *Bevan*, Zellulose. S. 6.

[2]) *Horace G. Deming*, Einige neue Lösungsmittel für Zellulose und ihre Einwirkung auf diese Substanz. Journ. Americ. Chem. Soc. 33. 1515—1525 (1911).

[3]) *Zd. H. Skraup* und *J. König*, Über die Zellobiose. Monatsh. f. Chem. 22. 1011 (1901). *Zd. H. Skraup*, Über Stärke, Glykogen und Zellulose. Auf Grund von

aus 240 cm^3 Essigsäureanhydrid und 32 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure, das auf —15° abgekühlt war, rasch abgegossen und unter fortwährendem Schütteln und Drehen des Kolbens die Masse möglichst in Bewegung gehalten, um lokale Erhitzungen zu vermeiden. Nach kurzer Zeit beginnt die Zellulose in Lösung zu gehen, wobei Erwärmung stattfindet. Man regelt nötigenfalls unter Wasserkühlung oder, falls die Reaktion zu träge vorwärts schreitet, durch vorsichtiges Erwärmen auf dem Wasserbade den Gang der Azetylierung so, daß die sich verflüssigende Masse möglichst rasch eine Temperatur von 105° erreicht. Dabei nimmt die Flüssigkeit eine gelbbraune bis rotbraune Farbe an. Man vermeidet eine weitere Erhöhung der Temperatur in der Reaktionsflüssigkeit, indem man den warmen Kolben sehr vorsichtig in Wasser taucht, dann kühlt man die Masse möglichst rasch auf etwa 50° ab und läßt sie in dünnem Strahle in etwa 6 *l* Eiswasser fließen, wobei man das Wasser mit Hilfe einer Turbine in lebhafter Bewegung hält. Dabei fällt ein hellfleischfarbenes Rohprodukt aus, das nach kurzer Zeit, besonders wenn die Mutterlauge mit reinem Wasser umgetauscht wird, bald erstarrt und sich absaugen läßt. Nachdem die Masse mit Wasser sorgfältig gewaschen und scharf gepreßt wird, löst man sie in 90%igem heißem Alkohol. Beim Erkalten fallen farblose Nadeln der Oktaazetylverbindung aus, die nötigenfalls noch einmal aus heißem Alkohol umkristallisiert werden.

Bei der Bereitung des Azetylierungsgemisches soll man darauf achten, daß beim Vermischen der Schwefelsäure mit Essigsäureanhydrid die Temperatur nicht über 20° steigen soll, was durch Kühlung in Kältemischung erreicht wird. Will man die partielle Hydrolyse mit kleineren Substanzmengen ausführen, so muß das Azetylierungsgemisch nicht so stark (auf —15°) abgekühlt werden.

Überschreitet man bei der Azetylierung die Temperatur von 105°, so erhält man schlechte oder gar keine Ausbeuten; wird die Temperatur zu niedrig gehalten, so erhält man ein Gemisch von unvollständig hydrolysierten Produkten, die dann die Reinigung der gebildeten Oktaazetylzellobiose sehr erschweren.

Die Oktaazetylzellobiose bildet farblose mehrere Millimeter lange Nadeln, die bei 225° schmelzen. *Skraup* und *König* geben den Schmelzpunkt 228°, *W. Schliemann* 221½—222° an. Die Zusammensetzung und das Molekulargewicht der Verbindung entspricht der Formel $C_{12}H_{14}(C_2H_3O)_8O_{11} = C_{28}H_{38}O_{19}$. Mol.-Gew. 676·29. Sie enthält 49·54% C und 5·65% H. Das Drehungsvermögen in Chloroformlösung beträgt nach den Angaben der verschiedenen Autoren — $[\alpha]_D^{20} = +41{\cdot}5$ bis $+43{\cdot}6°$.

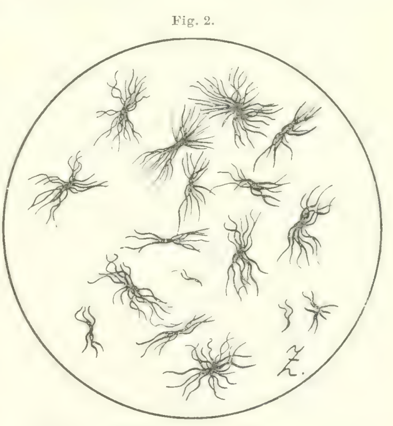
experimentellen Untersuchungen von *E. Geinsperger*. Monatshefte f. Chem. **26**. 1459 (1905). — *L. Maquenne* und *W. Goodwin*, Recherches sur le cellose. Bull. de la soc. chim. de Paris. [3]. **31**. 854—859 (1904). — *Emil Abderhalden* und *Géza Zemplén*, Partielle Hydrolyse der Tunikatenzellulose. Bildung von Zellobiose. Zeitschr. f. physiol. Chem. **72**. 58—63 (1911).

Die folgende Tabelle zeigt die Löslichkeit der Oktaazetylzellobiose vom Schmelzpunkt 222°. Der Quotient der letzten Spalte gibt an, wievielmal mehr Azetat das Lösungsmittel beim Sieden zu lösen vermag als bei 20°.[1])

Lösungsmittel	bei 20°	bei Siedetemperatur	Quotient
	100 *g* Lösungsmittel lösen		
Alkohol von 99·7 Gewichtsprozent	5·6 *mg*	1·18 *g*	210
„ „ 94·8 „		1·85 „	—
„ „ 85·0 „	18·0 „	3·94 „	219
„ „ 75·0 „	25·4 „	5·64 „	222
„ „ 65·0 „	23·6 „	5·36 „	227
„ „ 50·0 „	12·8 „	4·44 „	347
„ „ 25·0 „	1·6 „	0·79 „	494
Wasser	0·9 „	0·06 „	(67)
Benzol	64·0 „	1·84 „	29
Chloroform	19—20 *g*	etwa 28 „	1½

Es ist bemerkenswert, daß die Substanz in verdünntem Alkohol eine erheblich größere Löslichkeit als in absolutem Alkohol zeigt, obschon die Löslichkeit im Wasser äußerst gering ist.

Fig. 2.



Stehen kleine Mengen der Oktaazetylverbindung zur Verfügung, so stellt man zur weiteren Identifizierung das Phenylosazon der Zelloibose wie folgt dar.[2]) 0·5 *g* der Oktaazetylverbindung werden in 40 cm^3 heißem Alkohol suspendiert, rasch abgekühlt, sofort 1·5 cm^3 33%iger Kalilauge zugesetzt, etwa 10 Minuten geschüttelt, dann langsam in kleinen Portionen unter Schütteln Wasser zugesetzt, bis eine klare Lösung entsteht (45 cm^3). Um die Verseifung zu vollenden, wird die Lösung noch 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann mit Essigsäure neutralisiert, der Alkohol unter vermindertem Druck abdestilliert und die Lösung bis auf etwa 6 cm^3 eingeengt. Nach Zusatz von 0·5 *g* Phenylhydrazinchlorhydrat wird jetzt 1½ Stunden im Wasserbade erwärmt, wobei die Lösung klar bleibt. Beim Erkalten erfolgt die Ausscheidung von langen zitronengelben Nadeln (siehe Fig. 2).

[1]) *Wilhelm Schliemann,* Über die Zellobiose und die Azetolyse der Zellulose. *Liebig*s Annalen. **378**. 366—381 (1911).

[2]) *Emil Abderhalden* und *Géza Zemplén,* Partielle Hydrolyse der Tunikatenzellulose. Bildung von Zellobiose. Zeitschr. f. physiol. Chem. **72**. 58—63 (1911).

die abgesaugt und aus heißem Wasser umkristallisiert werden. Ausbeute 0·07.

Zellobiosephenylosazon. $C_{18}H_{22}O_4N_4$. Mol.-Gewicht 385·22. Stickstoffgehalt 15·64%. Schmelzpunkt beim raschen Erhitzen 198°. Die Kristalle lösen sich in etwa 135 Teilen heißem Wasser, in 10 Teilen heißem Alkohol und in 15 Teilen heißem 50%igen Alkohol.

Drehungsvermögen des Zellobiosazons in absolutem Alkohol.[1])

δ	α (Auerlicht)	[α] D (Auerlicht)	α D	[α] D
0·284	—0·15°	—13·2°	—0·18	—15·8
0·634	—0·37°	—14·6°	—0·44	—17·4
0·600	—0·40°	—16·7°	—0·46	—19·1

Die Mittelwerte sind etwa —15° im Auer- und —17·5° im Natriumlicht.

Darstellung der Cellobiose aus der Oktaazetylverbindung.

Man bereitet eine alkoholische Kaliumhydroxydlösung, die in 100 cm^3 10 *g* Kaliumhydroxyd enthält. 150 cm^3 der Lauge werden unter Wasserkühlung mit der Turbine stark gerührt und allmählich in kleinen Portionen 20 *g* des fein gepulverten Azetates eingetragen. Das Azetat geht zunächst in Lösung und bald erscheint an seiner Stelle die amorphe, nahezu farblose Kaliumverbindung der Zellobiose. Durch allmählichen Zusatz von absolutem Alkohol zum Reaktionsgemisch vermeidet man das Zusammenbacken der hygroskopischen Kaliumverbindung. Die Verseifung soll so langsam ausgeführt werden, daß die Operation bei den oben angegebenen Mengen etwa 1/2 Stunde in Anspruch nehmen soll. Jetzt läßt man das Reaktionsgemisch, um die Verseifung zu vervollständigen, etwa 2 Stunden stehen und gießt die Mutterlauge von dem Kaliumverbindungsniederschlag ab und wäscht ihn mit absolutem Alkohol. Hierauf löst man die Masse in möglichst wenig Wasser, neutralisiert gegen Lackmuspapier mit Essigsäure, filtriert von kleinen Resten unveränderten Azetates und dampft unter vermindertem Druck zu einem Sirup ein. Dieser wird mit absolutem Alkohol bis zur beginnenden Trübung versetzt und stehen gelassen. Nach einigen Stunden beginnt schon die Kristallisation der Zellobiose, die durch allmählichen Zusatz von absolutem Alkohol verstärkt werden kann. Der kristallinische Zucker wird in wenig Wasser gelöst und mit Alkohol wieder umkristallisiert. Dabei erhält man schon die Zellobiose rein.

Hat man nur kleine Mengen der Oktaazetylzellobiose zur Verfügung, so führt man die Verseifung mit Barytwasser wie folgt aus.[2])

0·7 *g* Oktaazetylverbindung werden in 50 cm^3 Azeton gelöst und unter Schütteln mit 50 cm^3 Barytwasser versetzt. Unter fortwährendem Schütteln

[1]) *Wilhelm Schliemann,* Über die Zellobiose und die Azetolyse der Zellulose. *Liebigs* Annalen. **378**. 366—381 (1911).

[2]) *Emil Abderhalden* und *Géza Zemplén,* Partielle Hydrolyse der Tunikatenzellulose. Bildung von Zellobiose. Zeitschr. f. phys. Chemie. **72**. 58—62 (1911).

wird jetzt Wasser in Portionen von 25 *cm*³ zugesetzt und weiter geschüttelt. Nach etwa 10 Stunden ist die Substanz bis auf Spuren gelöst. Die Menge des angewandten Wassers beträgt etwa 300 *cm*³. Es wird noch 14 Stunden lang weiter geschüttelt, dann der Baryt mit Schwefelsäure quantitativ entfernt und das Filtrat unter vermindertem Druck auf etwa 2 *cm*³ eingedampft. Nach 3tägigem Stehen im Exsikkator beginnt die Ausscheidung von Zellobiosekristallen, die sich auf Zusatz von Alkohol vermehren.

Eigenschaften der kristallisierten Zellobiose.

Zellobiose bildet mikroskopische Kristalle in Form unregelmäßiger Prismen oder Tafeln. Die im Vakuumexsikkator getrocknete Substanz enthält noch 1/4 Mol. Kristallwasser, das bei 100° entweicht. Formel: $C_{12}H_{22}O_{11}$; Mol.-Gew.: 342·18; Zusammensetzung: 42·11% C, 6·43% H, 51·46% O. Bei 180° wird es gelblich, dann immer dunkler, bei ca. 225° zersetzt es sich unter Aufschäumen und Verkohlung. Löst sich in 2—3 Teilen heißem und in 8 Teilen kaltem Wasser. Ist unlöslich in Alkohol und in Äther. Der Geschmack ist nicht süß, höchstens der Nachgeschmack ist süßlich. Eine 10%ige Lösung zeigt 10 Minuten nach dem Auflösen die Drehung $[\alpha]_D^{20} = + 26·1°$, und nach 15 Stunden die konstante Enddrehung + 33·70°.

Drehungsvermögen der Zellobiose nach *Hardt-Stremayr.*[1])

Prozentgehalt der Lösungen = 8·38; Spez. Gew. = 1·034; Länge des Beobachtungsrohrs = 50·85 *mm*; Temperatur = 20°.

Zeit nach Beginn der Auflösung	α_D °	$[\alpha]_D^{20°}$
6 Minuten	+ 0·725	+ 16·45
20 „	+ 0·785	+ 17·28
50 „	+ 0·92	+ 20·9
1 Stunde 30 Minuten	+ 1·085	+ 24·6
2 Stunden 30 „	+ 1·21	+ 27·5
5 „ 15 „	+ 1·35	+ 30·6
8 „ — „	+ 1·40	+ 31·9
10 „ 30 „	+ 1·41	+ 32·1
12 „ 30 „	+ 1·42	+ 32·2
24 „ — „	+ 1·38	+ 31·3
32 „ — „	+ 1·40	+ 31·9

Die 2—17%igen Lösungen zeigen praktisch ein konstantes Drehungsvermögen. Als Mittelwert ergibt sich + 34·66°.[2])

Das Drehungsvermögen der Zellobioselösungen nimmt mit steigender Temperatur zwar wenig, aber doch merklich zu, wie das aus folgender Zusammenstellung ersichtlich ist.

---

[1]) *Emil R. v. Hardt-Stremayr*, Über Azetylderivate der Zellobiose. Monatshefte für Chemie. 28. 73 (1907).

[2]) *Wilhelm Schliemann,* Über die Zellobiose und die Azetolyse der Zellulose. *Liebigs* Annalen der Chemie. 378. 366—381 (1911).

Prozentgehalt der Lösung	Temperatur	Dichte	α_D	$[\alpha]_D$
9·6656	15°	1·03804	13·935°	34·72°
9·6656	20°	1·03698	13·935°	34·76°
9·7337	20°	1·03724	14·07°	34·84°
9·7337	30°	1·03407	14·115°	35·06°
10·2566	15°	1·04066	14·76°	34·57°
10·2566	20°	1·03951	14·78°	34·66°
10·2566	30°	1·03636	14·835°	34·89°
14·8291	20°	1·05880	21·695°	34·54°
14·8291	30°	1·05551	21·755°	34·75°

Das Reduktionsvermögen, nach dem Verfahren von *Bertrand* bestimmt, ist aus folgender Tabelle ersichtlich.[1])

Gewicht der Zellobiose in Milligramm	Gewicht des Kupfers in Milligramm
10	14·4
20	27·9
40	55·8
50	67·7
60	82·2
90	124·5

Im Mittel entspricht jedem Milligramm Zellobiose 1·91 *mg* Kupfer.

Bei der Säurehydrolyse entsteht d-Glukose. Mit Hefe gärt die Zellobiose nicht, dagegen wird sie durch ein besonderes Ferment, das in zahlreichen Pilzen und höheren Pflanzen vorkommt und auch in dem käuflichen Emulsin vorhanden ist, in 2 Mol. Glukose gespalten.

Eine direkte Azetylierung der Zellobiose mit Essigsäureanhydrid in Gegenwart von Schwefelsäure führt ebenfalls zu der Oktaazetylzellobiose vom Schmelzpunkt 222°. Führt man aber die Azetylierung in Gegenwart von geschmolzenem Natriumazetat aus, so erhält man eine Oktaazetylzellobiose, die dem erwähnten isomer ist, viel niedriger, bei 191$^1/_2$–192° schmilzt und ein abweichendes Drehungsvermögen zeigt, wie es aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

Drehungsvermögen der Oktaazetylzellobiose.
Schmelzpunkt 191$^1/_2$—192°.[2])

In Chloroform:

Prozentgehalt der Lösung	Dichte d $^{20}/_{4}{}^{0}$	$\alpha_D^{20^0}$	$[\alpha]_D^{20^0}$
2·216	1·473	— 0·97°	— 7·4°
2·808	1·472	— 1·28°	— 7·7°
3·705	1·471	— 1·81°	— 8·3°

In Benzol:

Prozentgehalt der Lösung	Dichte d $^{20}/_{4}{}^{0}$	$\alpha_D^{20^0}$	$[\alpha]_D^{20^0}$
2·959	0·8869	— 2·61°	— 24·9°
3·633	0·8888	— 3·22°	— 24·9°

[1]) *G. Bertrand* und *M. Holderer,* Recherches sur la cellase, un nouveau Ferment dedoublent la cellose. Bulletin de la société chimique de France [4]. 7. 177—184 (1910).

[2]) *Wilhelm Schliemann,* Über die Zellobiose und die Azetolyse der Zellulose. *Liebigs* Annalen. **378**. 366—381 (1911).

Dieselbe Oktaazetylverbindung kann durch Behandlung der Azetohalogenverbindungen der Zellobiose mit Silberazetat in essigsaurer Lösung erhalten werden.

Nachweis der reduzierenden Eigenschaften verschiedener Zellulosearten.

Man digeriert die zu prüfende Zellulose einige Sekunden mit einer heißen alkalischen verdünnten Flavanthren-Hydrosulfitküpe, wäscht aus, entwickelt den gelben Farbstoff durch Übergießen mit Hypochloritlösung oder minutenlanges Liegen an der Luft und erhitzt die ausgewaschene Zellulose mit zirka $\frac{2}{n}$-Natronlauge zum Sieden. Je nach der Reduktionsfähigkeit der Faser geht dann ihre gelbe Farbe mehr oder weniger rasch wieder in das Dunkelblau der Küpe über. Oxyzellulose wird fast augenblicklich dunkelblau, gewöhnlicher, nicht sorgfältig gebleichter Baumwollsatin oder Filtrierpapier in weniger als 1 Minute. Verbandwatte oder sorgfältig gebleichter Satin bedarf der mehrfachen Zeit.[1]

Bestimmung der Kupferzahl.[2]

Etwa 3 *g* der zu untersuchenden Zellulose werden möglichst zerkleinert, lufttrocken genau abgewogen und in einen sehr weithalsigen 1·5-Literkolben eingebracht, dann mit 300 *cm*³ siedendem, destilliertem Wasser übergossen. Man schiebt jetzt den Kolben von unten über einen Glaskühler mit Innenrohr und Rührachse. Bei der Apparatur müssen Gummiteile gänzlich vermeidet werden. Es ist das wohl möglich, wenn man die Kühlung der Wasserdämpfe durch einen in den weiten Kolbenhals gehängten gläsernen Wasserkühler bewirkt. In der Achse des Kühlers befindet sich eine weite Glasröhre, durch welche sowohl die Rührachse hindurchgeht, als auch notwendige Zusätze, wie *Fehling*sche Lösung, und anderes durch einen Seitenarm eingegossen werden können.[3] Hängt man den Kühler etwa mit Nickeldraht an einer Stativklammer auf, so können Rührer und Kühler dauernd unverrückbar montiert bleiben, während man nur den Kolben nach unten zu entfernen hat. Diese Anordnung hat den weiteren Vorteil, daß sehr gleichmäßige Rührung sogleich ohne jede Einstellung von Klammern usw. erzielt wird. Der Kolben wird auf einem großen Drahtnetz mit Pilzbrenner zu vollem Sieden unter mäßiger Rührung erhitzt. Unterdessen hat man 50 *cm*³ alkalische Seignettesalzlösung zum Sieden erhitzt, in diese eine ebenfalls siedende (50 *cm*³) Kupferlösung

---

[1]) *R. Scholl*, Ein Versuch zur Veranschaulichung der reduzierenden Eigenschaften von Zellulose. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. **44**. 1312—1314 (1911).

[2]) *Carl G. Schwalbe*, Die Bestimmung des Bleichgrades. Zeitschr. f. angew. Chemie. **23**. 924—928 (1910).

[3]) Eine solche Apparatur wird von der Firma Ehrhardt & Metzger Nachf. in Darmstadt angefertigt.

eingegossen und das Gemisch durch Tropftrichter in den Seitenarm des erwähnten Innenrohres zum siedenden Kolbeninhalt gegeben. Von dem Moment, in dem nach Zufluß der *Fehling*schen Lösung wieder volles Sieden erreicht ist, wird eine Viertelstunde lang weiter gekocht. Hierauf wird der Kolben vom Kühler und Rührwerk getrennt. Der Inhalt wird durch einen auf Saugflasche befindlichen Büchnertrichter mit doppelter Filterscheibe, *Schleicher* & *Schüll* (Nr. 595, 7 *cm* Durchmesser) abgesaugt; die Fasermasse auf dem Filter bzw. noch im Kolben so lange mit Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat kupferfrei (Ferrocyankaliumprobe) ist. Die Fasermasse samt Filterscheiben wird nunmehr in einer Porzellanschale mit heißem Wasser überdeckt, 15 *cm*³ verdünnter Salpetersäure (6·5%) hinzugegeben und auf dem Wasserbade digeriert, jedoch nur so lange, bis alles Kupfer bzw. Kupferoxydul oder Oxyd gelöst ist, was durch häufiges Umrühren bei teilweisem Herausragen der Fasermassen aus der Flüssigkeit beschleunigt werden kann. Nun wird heiß durch eine Filterscheibe im Büchnertrichter abgesaugt und mit siedendem Wasser ausgewaschen. Dann wird Ammoniak auf das Filter getropft oder die Fasermasse in die Schale zurückgebracht, mit Ammoniak übergossen und nach einigen Minuten mit Salpetersäure angesäuert und wieder mit heißem Wasser nachgewaschen, bis die Fasermasse, mit Ferrocyankalium und Natriumazetat betropft, farblos bleibt. Die sauren Filtrate werden eingedunstet, bis ihr Volumen die Unterbringung in der zur Elektrolyse bestimmten Platinschale gestattet. Man fügt noch 1—2 *cm*³ Schwefelsäure 1 : 10 hinzu und elektrolysiert mit 2 Amp. 20—45 Minuten bei schneller Anodenrührung. Nachdem die Ferrocyankaliumprobe (Natriumazetat) Kupferfreiheit der Lösung anzeigt, wird unter andauerndem Stromdurchgang ausgewaschen, bis auf dem Amperemeter der Zeiger auf Null gesunken ist und der sehr empfehlenswerte Glühlampenwiderstand kein Licht mehr zeigt. Die Schale wird mit destilliertem Wasser gespült, mit Alkohol und Äther nachgewaschen und stets bei gleicher Temperatur getrocknet. Arbeitsdauer 2½ Stunden; Zeitdauer je nach dem Volumen der zu verdampfenden Flüssigkeit etwa 5 Stunden.

Handelt es sich um die Kupferzahlbestimmung bei Zellstoffen, ferner bei schleimigen und kolloiden Zellulosen etwa um Pergament, Amyloid, Guignetzellulose, um verseifte Azetatester u. dgl., so bereitet das Abfiltrieren der überschüssigen *Fehling*schen Lösung große Schwierigkeit; auch gehen Kupferpartikel durchs Filter. Diese Mißstände kann man aber leicht beseitigen durch Zugabe von gereinigter Kieselgur und kräftigem Durchschütteln. Alle schleimigen Niederschläge und Kupferpartikel filtrieren nunmehr glatt in sehr kurzer Zeit. Beim Filtrieren muß man vor allen Dingen darauf achten, daß die schleimige Zellulose, noch durchtränkt mit fast siedender alkalischer Kupferlösung, nicht mit der Luft in Berührung kommt. Oxydation und punktförmige Abscheidung neuer Kupfermengen sind die Folge. Man muß also den Saugtrichter gefüllt halten und darf nicht trocken saugen, solange noch unverdünnte Kupferlösung abzusaugen ist.

Das Gemisch von Kieselgur, Zellulose und Kupfer wird nach dem Auswaschen genau nach Vorschrift mit Säure ausgezogen. Elektrolysiert man die abgesaugte saure Flüssigkeit ohne weiteres, so kann es vorkommen, daß gelöste organische Substanz sich mit dem Kupferniederschlag in der Schale vermischt, so daß zu hohe Kupferwerte erhalten werden könnten.

Völlig umgehen läßt sich der Übelstand, wenn man die saure Lösung zur Trockne bringt und auf einem Sandbade in der Schale, überdeckt mit gut anschließendem Trichter, bis zum Schwarzwerden des Kupfersalzes erhitzt. Nimmt man nunmehr mit Säure auf, d. h. spült den Trichter mit 3—4 *cm*³ konzentrierter Salpetersäure aus und spült mit warmem Wasser nach, so geht alles Kupfer in Lösung und bleiben nur einige wenige rotbraune Zellulosepartikel (frei von Eisen) zurück, deren Abfiltrieren überflüssig ist, da sie keinerlei Neigung zum Absetzen in der Platinschale zeigen.

Unter Beobachtung dieser Vorsichtsmaßregeln gelingt die Bestimmung der Kupferzahl selbst bei völlig kolloiden Zellulosen.

Bei der Bereitung der Seignettesalz- und Kupferlösung (Kupfervitriollösung: 138·56 *g* in 2 *l*, Seignettesalzlösung: 692 *g* und 200 *g* Ätznatron in 2 *l*) vermeidet man am besten jedes Filtrieren. Läßt sich die Lösung durch Stehenlassen klären, so gießt man das Klare vorsichtig vom Bodensatz ab. Sind die Reagenzien so unrein, daß eine Filtration erforderlich wird, so soll durch Glaswolle, nicht aber durch Filtrierpapier filtriert werden. Es hat sich herausgestellt, daß schon durch Filtration einer Seignettesalzlösung (ohne Alkali) durch Filtrierpapier unter Umständen die spätere fertige *Fehling*sche Lösung beim Erhitzen eine schwarzbraune Trübung abscheidet. Absaugen durch einen Goochtiegel ist auch nicht statthaft, da die Lösung mit dem zur Dichtung erforderlichen Gummiring in Berührung kommt und die in Lösung gehenden Bestandteile des Gummis Schwarzbraunfärbung der heißen Lösung hervorrufen.

Bei Bestimmungen von Kupferzahlen der Hydratzellulosen, die Kupfer aus *Fehling*scher Lösung aufsaugen und als Kupferalkalizellulose festhalten, muß diese Kupfermenge gesondert bestimmt werden. Dies kann durch Einlegen einer neuen Probe der Substanz in *Fehling*scher Lösung geschehen, in der man die Hydratzellulose etwa ³/₄ Stunden beläßt. Bei zu langem Verweilen, etwa 4—5 Stunden, wird schon in der Kälte Kupfer abgeschieden. Nach vollständigem Auswaschen wird das Kupfer herausgelöst und bestimmt. So erhält man die Menge des Hydratkupfers.

Eine gewisse Menge Hydratkupfer wird man übrigens in jeder Zellulose finden aus dem einfachen Grunde, weil beim Einlegen in die wenn auch nur schwache alkalische *Fehling*sche Lösung eine gewisse Merzerisation (Hydratation) stattfindet und die erst gebildete merzerisierte Zellulose nunmehr Kupfer festhält.

Zieht man das Hydratkupfer aus der Kupferzahl ab, so erhält man die „wahre oder korrigierte Kupferzahl“.

Statt Hydratkupfer schlägt *H. Ost*[1]) die Bezeichnung „Alkalioxydkupfer“ vor.

Bestimmung des Reduktionsvermögens mittelst Permanganat.[2])

Das Verfahren gibt höhere Resultate als die Bestimmung der Kupferzahl. Man trocknet etwa 5 *g* des Produktes bei 125° bis zur Konstanz, oxydiert mit 10 *cm*³ Permanganatlösung (die im Kubikzentimeter 0·0041 *g* Kaliumpermanganat enthält) in 250 *cm*³ schwefelsaurer Lösung während einer Stunde bei gewöhnlicher Temperatur unter zeitweiligem Rühren und titriert in 100 *cm*³ der Flüssigkeit das unverbrauchte Kaliumpermanganat zurück.

Bestimmung der Hydrolysierzahl bzw. des Hydratationsgrades.[3])

Eine hydratisierte Zellulose läßt sich mit Säuren um so schneller hydrolysieren, je größer ihre Hydratation ist. Demnach können zur annähernden Bestimmung des Hydratationsgrades die mit Säuren abspaltbaren reduzierenden Substanzmengen dienen. Zu dem Zweck werden etwa 3 *g* Substanz in dem bei der Bestimmung der Kupferzahl beschriebenen Apparate mit 250 *cm*³ 5%iger Schwefelsäure unter Umrühren ¼ Stunde gekocht und nach der Neutralisierung der Säure mit der entsprechenden Menge Natronlauge mit heißem Wasser auf 300 *cm*³ verdünnt und weiter wie bei der Kupferzahlbestimmung angegeben fortgefahren. Rechnet man die erhaltenen Kupferwerte auf 100 *g* um, so erhält man die Hydrolysierzahl. Zieht man aus dieser die Kupferzahl ab, so erhält man eine Differenz, die den Hydratationsgrad der Zellulose ausdrückt. Auf Grund dieser Arbeitsmethode fand *Schwalbe* folgende Werte.

	Hydrolysierzahl	Kupferzahl	Hydratationszahl
Verbandwatte	3·3	1·1	2·2
Verbandwatte mit 8%iger Natronlauge mercerisiert	3·2	0·9	2·3
„ „ 16% „ „ „	5·0	1·3	3·7
„ „ 24% „ „ „	6·1	1·2	4·9
„ „ 40% „ „ „	6·6	1·9	4·7
Glanzstoff-Seide	12·8	1·5	11·3
Viskose A	14·0	1·9	11·5
Viskose B	14·5	3·0	13·7
Viskose C	16·6	2·9	11·3
Chardonnet-Seide	17·7	4·1	13·6
Hydrozellulose nach *Girard*	6·6	5·7	0·9
*Mitscherlich*scher Zellstoff ungebleicht	4·4	2·4	0·9
*Ritter-Kellner*scher Zellstoff ungebleicht	3·5	2·8	2·7

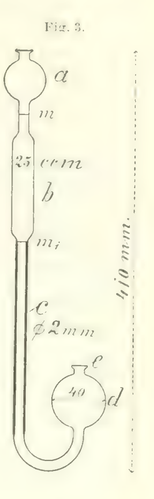
[1]) *H. Ost*, Die Viskosität der Zelluloselösungen. Zeitschr. f. angew. Chemie. **24**. 1892—1896 (1911).

[2]) *L. Kollmann*, Über den Einfluß der Temperatur beim Mercerisieren. Färber-Zeitung **22**. 42—44 (1911).

[3]) *Carl G. Schwalbe*, Zur Hydratwasserbestimmung in Zellulosematerialien. Zeitschr. f. angewandte Chemie **21**. 1321—1323 (1908); Die Chemie der Hydratzellulosen. Zeitschr. f. angewandte Chemie **22**. 197—201 (1909).

Bestimmung der Viskosität von Zelluloselösungen nach Ost. [1]

Als Unterscheidungsmittel für verschiedene Zellulosen läßt sich das Vergleichen der Viskosität der Lösungen in Kupferoxydammoniak heranziehen. Zu diesem Zwecke ist die Verwendung von einer leicht herstellbaren „Normalkupferoxydammoniaklösung" (siehe dort) sowie eines zuverlässigen und leicht zu handhabenden Viskosimeters für kleinere Flüssigkeitsmengen unerläßlich.



Am besten bewährt sich ein Capillar-Viskosimeter nach *Ostwald*, das ganz aus Glas konstruiert ist und gute Vergleichswerte liefert.

Das Instrument (siehe Fig. 3) ist für 25 cm^3 Flüssigkeit eingerichtet; es besteht aus dem oberen Behälter *a*, einer 25 cm^3-Pipette *b*, einer sorgfältig ausgemessenen Kapillare *c* von 2 *mm* Weite und 200 *mm* Länge, und dem unteren Behälter *d*. Man verschließt die Mündung *e* mit einem Stopfen, füllt die Flüssigkeit durch *a* in die Pipette *b* ein, bis etwas über die Marke *m*, läßt nach Entfernung des Stopfens bei *e* fließen und notiert das Passieren der Marken *m* und m_1 mit Hilfe einer Sekundenuhr. Die Instrumente werden für Wasser und eine 50%ige Rohrzuckerlösung (1 Teil Zucker : 1 Teil Wasser) bei 20° geeicht. Bei vier Instrumenten betrugen die Ausflußzeiten bei 20°:

Viskosimeter Nr.	Wasser Zeit in Sekunden	Zuckerlösung	
		Zeit in Sekunden	Viskosität
1	27	276	10·2
2	29	294	10·1
3	29·5	300	10·2
4	27·5	276	10·1

Das Kapillarviskosimeter ist für den vorliegenden Zweck hinreichend genau, ist bequem zu handhaben und leicht zu reinigen: man spült mit Kupferoxydammoniak, Ammoniak, Wasser, Alkohol und Äther und trocknet mit der Strahlpumpe.

Die zu vergleichenden Zelluloseproben werden unter gleichen Bedingungen an der Luft ausgebreitet und lufttrocken in Stöpselflaschen aufbewahrt. Man bestimmt in einer besonderen Probe den Wassergehalt. Je 1 *g* der wasserfrei berechneten Substanz wird in kleinen Stöpselflaschen in 50 cm^3 Normalkupferoxydammoniaklösung unter wiederholtem Durchschütteln bei Zimmertemperatur aufgelöst und nach 24 Stunden bzw.

---

[1]) *H. Ost*, Die Viskosität der Zelluloselösungen. Zeitschr. f. angewandte Chemie. 24. 1892—1896 (1911).

Einige charakteristische Zahlen für Zellulosen.

Bezeichnung des Präparates	Wasser-gehalt	Kupfer-zahl	Hydrat-kupfer (Alkali-oxyd-kupfer)	Viskosität nach 24 Stunden	Viskosität nach 2 Tagen	Viskosität nach 7 Tagen
Verbandwatte, die übliche des Handels	5·97%	1·0	—	18·0°	—	8·0°
Dieselbe	5·97%	1·0	—	—	—	25·0°
Dieselbe, 15 Stunden auf 120—125° erhitzt	5·36%	1·0	—	11·2°	—	6·3°
Eine mäßig gereinigte, etwas gelbliche Baumwolle für Nitrozellulose aus der Fabrik von *P. Temming* in Bühl-Elsaß	6·43%	0·86	0·32	30·2°	8·7°	4·3°
Dieselbe	6·43%	8·86	0·32	—	35·1°	8·0°
Dieselbe 15 Stunden auf 120—125° erhitzt	4·88%	0·83	0·39	13·6°	—	5·8°
Dieselbe	4·88%	0·83	0·39	—	16·5°	7·7°
Dieselbe 24 Stunden lang mit 5%iger Natronlauge kalt digeriert und gut ausgewaschen (Gewichtsverlust 3·6% der Trockensubstanz)	6·73%	0·59	0·33	29·5°	—	8·0°
Dieselbe	6·73%	0·59	0·33	—	30·3°	9·3°
Eine sehr gut gereinigte weiße Baumwolle für Zelluloid von *P. Temming*, Bühl	6·06%	1·86	0·33	11·2°	—	5·5°
Dieselbe	6·06%	1·86	0·33	—	—	12·2°
Dieselbe 15 Stunden auf 120—125° erhitzt	4·15%	1·43	0·38	8·3°	—	4·8°
Beste amerikanische Originalbaumwolle, nicht vorbehandelt, von *P. Temming*, Bühl	6·28%	0·87	0·59	16·8°	—	7·7°
Dieselbe	6·28%	0·87	0·59	—	22·1°	10·3°
Dieselbe 24 Stunden lang mit 5%iger Natronlauge, kalt digeriert und gut ausgewaschen (Gewichtsverlust 5·7% der Trockensubstanz)	7·10%	0·97	0·40	16·4°	—	6·6°
Dieselbe	7·10%	0·97	0·40	—	23·8°	8·6°
Baumwollgewebe, schwach gebleicht von den Höchster Farbwerken	6·01%	0·90	0·64	13·3°	—	7·5°
Aschefreies Filtrierpapier von *Schleicher & Schüll*	6·35%	2·18	1·01	3·5°	—	2·7°
Filtrierpapier von *M. Dreverhoff*, mit Salzsäure und Fluorwasserstoff gereinigt	5·56%	1·74	0·51	5·7°	—	3·8°
Sulfitzellstoffstoffpapier bestgereinigt, für Zelluloid	7·19%	2·14	0·84	10·7°	—	3·2°
Natronstrohstoff, gewöhnliches gebleichtes Fabrikationsprodukt aus Weißenborn vom Jahre 1892	8·49%	2·814	1·23	5·1°	—	4·4°

48 Stunden mit 50 *cm*³ Wasser verdünnt und die Viskosität gemessen. Um die Werte zu vergleichen, ist es empfehlenswert, nach 7tägiger Auflösung die Viskositätsbestimmung wieder auszuführen.

Eine erhebliche Unsicherheit der Viskositätsbestimmungen, namentlich bei dickflüssigen Lösungen, entsteht aus ihrer leichten Oxydierbarkeit durch den Luftsauerstoff. Wiederholt man die Bestimmungen mit derselben Lösung unmittelbar nacheinander, so erhält man z. B. die Werte:

30·2, 24·1, 21·1, 19·1 und 16·9.

Am folgenden Tage findet man bei derselben Lösung folgende Zahlen:

8·7, 8·5 und 8·4

und 6 Stunden später

7·2 und 7·1.

Sobald die Viskosität auf etwa 8° gesunken ist, hört die rasche Abnahme auf, und bei allen dünnflüssigen Lösungen stimmen die aufeinanderfolgenden Messungen überein. Ein weiteres Sinken der Viskosität tritt bei längerem Stehen der Lösungen, auch der dünneren, in verschlossenen Flaschen ein, ebenfalls infolge von Oxydation durch gelösten Sauerstoff. Läßt man die zweiprozentigen Lösungen vor dem Zusatz von Wasser ruhig stehen, so bleibt die Viskosität auch sehr dicker Lösungen ziemlich erhalten.

Trotz dieser Unsicherheiten geben aber die Viskositäten sicheren Aufschluß über den Grad der Vorbehandlung der Zellulosen, wenn sie in der angegebenen Weise gemessen werden.

Trocknung der Substanz zur Analyse und für wissenschaftliche Untersuchungen.

In einem gut gedichteten Exsikkator erreicht man unter vermindertem Druck nach etwa 20 Stunden die Gewichtskonstanz der Proben. Um den Prozeß zu beschleunigen, ist es vorteilhaft, solche Vakuum-Exsikkatoren zu benutzen, die auf etwa 90° erwärmt werden können. Trocknen bei hohen Temperaturen und in Anwesenheit von Luft ist nicht ratsam, da die Zellulose dabei eine langsame Zersetzung erleidet. Bei wissenschaftlichen Untersuchungen soll man mit Rücksicht auf die kleinen Substanzmengen und der dadurch bedingten Vergrößerung der Fehler das Trocknen immer an einer besonderen Probe vornehmen, damit für die nachfolgenden Reaktionen nicht ein Produkt verwendet werden soll, das schon durch sehr langes Trocknen teilweise Zersetzung erlitten haben könnte.

Bestimmungsmethoden der Zellulose.[1]

Ein brauchbares Verfahren bei der Zellulosebestimmung soll ein möglichst reines Präparat liefern, das frei von Ligninsubstanzen, färbenden Verunreinigungen usw. ist. Die Aschenbestandteile können nachträglich leicht durch Extraktion mit verdünnter Salzsäure oder Flußsäure entfernt

[1]) Näheres bei *Max Renker,* Über Bestimmungsmethoden der Zellulose. Berlin 1910. *J. König* und *Fr. Hühn,* Die Bestimmung der Zellulose in Holzarten und Gespinnstfasern. Zeitschr. f. Farbenindustrie.

werden. Dagegen muß das Produkt möglichst frei von Umsetzungsprodukten wie Oxyzellulose oder Hydrozellulose sein, da bei deren Entstehung stets ein Teil der Zellulose in lösliche Produkte übergeht, außerdem sind diese Substanzen im Gegensatz zu Zellulose chemisch leicht angreifbar. Man wird demjenigen Verfahren den Vorzug vor anderen geben, das bei genügender Reinheit des Präparates die größte Ausbeute an reiner Zellulose liefert und dadurch beweist, daß bei ihm die Zellulosesubstanz nicht oder nur unwesentlich verändert wird. Ein direkter Maßstab für den Angriff derselben durch die verwendeten Reagentien ergibt sich, wenn man das erhaltene reine Produkt nochmals der gleichen Behandlungsweise unterwirft: es soll dabei gar nicht oder nur unwesentlich an Gewicht verlieren.

Leider besitzen wir bis jetzt kein Verfahren, das diesen Anforderungen in jeder Beziehung entsprechen würde.

Vor der eigentlichen Behandlung des Rohproduktes mit hydrolysierenden bzw. oxydierenden Reagentien ist es empfehlenswert, die Substanz (2—5 *g*) zunächst 5—6mal mit je 100 cm^3 Wasser, dann mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Alkohol und Benzol 6—8 Stunden zu extrahieren. Darauf wird die Substanz wiederholt mit kochendem Alkohol, zuletzt mit heißem Wasser gewaschen und in Wägegläsern nach dem bei der Trocknungsmethode beschriebenen Verfahren getrocknet.

1—3 *g* der so vorbehandelten Substanz werden dann für die weitere Bestimmung abgewogen und nach der Behandlung mit den Agentien in einem Goochtiegel abfiltriert. Man ersetzt den Asbest des Tiegels zweckmäßig durch ein kleines Scheibchen Filtrierpapier, über das 3—4 kreisrunde Scheibchen reiner Leinwand gelegt werden; das ganze wird bedeckt von dem gewöhnlichen Porzellanfilterplättchen. Die so beschickten Tiegel lassen auch beim stärksten Saugen keine Spur von Fasern durch. Nach beendeter Filtration und gründlichem Auswaschen wird die erhaltene Zellulose getrocknet und samt dem Goochtiegel in großen Wägegläsern zur Wägung gebracht. Trocknen bis zur Gewichtskonstanz ist bei der außerordentlichen Hygroskopizität des Materials unerläßlich. Die erhaltene Zellulose muß stets auf ihre Reinheit bzw. Verunreinigungen geprüft werden. Besonders muß auf Lignozellulose, Oxyzellulose, Hydrozellulose und Hydratzellulose (siehe dort) geprüft werden.

A. Behandlung des Rohproduktes mit hydrolysierenden Agentien.

Zu diesen Verfahren der Zellulosebestimmung gehören die sogenannten Rohfaserbestimmungsmethoden. Sie geben keine ligninfreie Zellulose, und diejenigen, die ein annähernd reines Produkt geben, greifen die Zellulose stark an. Zellulose und Rohfaser dürfen also niemals miteinander identifiziert oder verwechselt werden. Die letztere ist ein konventionelles Produkt, hauptsächlich ein Gemisch von Zellulose und Lignozellulose neben Pentosane, Asche und stickstoffhaltigen Bestandteilen, wie es durch bestimmte, genau zu befolgende Operationen erhalten wird. Deshalb muß

bei der Angabe eines Zellulosegehaltes stets das Verfahren angegeben werden, wodurch man die Zahl erhalten hat.

1. Bestimmung der Rohfaser nach dem Verfahren von *Henneberg* und *Stohmann:* die *Weender*-Methode.[1])

Das Verfahren wird bei Nahrungsmitteln und agrikulturchemischen Untersuchungen sehr oft ausgeführt.

3·4 *g* Substanz (entsprechend ungefähr 3 *g* Trockensubstanz) werden in einer Porzellanschale (sog. Rohfaserschale, bei welcher das Niveau von 200 *cm*³ Flüssigkeit durch eine eingebrannte Marke angegeben ist) mit 50 *cm*³ 5%iger Schwefelsäure und 150 *cm*³ Wasser unter Ersatz des verdunstenden Wassers ½ Stunde lang gekocht. Darauf läßt man absitzen, gießt die überstehende Flüssigkeit in ein Becherglas und kocht den Rückstand ¼ Stunde lang mit destilliertem Wasser, gießt nach dem Absetzen in dasselbe Becherglas ab und wiederholt das Verfahren noch einmal. Die im Becherglas gesammelte Flüssigkeit überläßt man zur Sedimentierung mitgerissener Rohfaserteilchen einige Zeit der Ruhe; darauf hebert man den größten Teil derselben ab, ohne den Bodensatz aufzurühren, und gießt den Rest zusammen mit dem Inhalt der Porzellanschale durch ein Filter. Der Filterrückstand wird durch Aufgießen von heißem Wasser flüchtig ausgewaschen und sodann mit 200 *cm*³ 1¼%iger Kalilauge in die Schale zurückgespült; darauf wird wieder ½ Stunde und zweimal mit Wasser je ¼ Stunde gekocht, das Ungelöste quantitativ in dem Goochtiegel gesammelt, mit Wasser, heißem Alkohol und Äther gewaschen, getrocknet und gewogen.

Die Ausführung dieser Bestimmungsmethode nimmt 2 Tage in Anspruch. Um die Behandlung an einem Tage zu Ende zu führen, bedient man sich sehr oft der von *Fr. Holdefleiß*[2]) beschriebenen Ausführungsweise. Dabei bedient man sich eines birnförmigen Gefäßes (*Holdefleiß*-Birne), dessen Hals konisch ausläuft und etwa 250—280 *cm*³ Flüssigkeit aufnehmen kann. Man bringt in dem Gefäß einen Büschel von ausgeglühtem, langfaserigem Asbest und saugt ihn fest in die Spitze der Birne. Jetzt füllt man die 3 *g* Substanz in die Birne und versetzt mit 200 *cm*³ einer kochenden Flüssigkeit, die 50 *cm*³ einer 5%igen Schwefelsäure enthält. Die Birne wird mit einem Tuche dicht umwickelt, um Wärmestrahlung möglichst zu verhindern, und hierauf durch ein Glasrohr, das bis auf den Boden der Birne reicht, Dampf eingeleitet. Man regelt den Dampfstrom so, daß weder ein Hinausschleudern, noch ein Zurücksteigen der Flüssigkeit eintritt. Letztere Gefahr wird auch durch Anbringung eines U-förmig gebogenen Kugelrohres im Halse der Dampfentwicklungsflasche

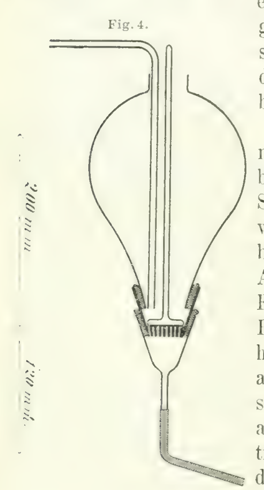
[1]) *G. Lunge,* Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. 5. Aufl. II. 453 (1904).

[2]) *Fr. Holdefleiß,* Eine abgekürzte Methode der Rohfaserbestimmung. Landwirtschaftliche Jahrb. **6.** Suppl. 101 (1877); Zeitschr. f. analyt. Chem. **16.** 498 (1877). *J. König,* Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. 3. Aufl. 1906. S. 246.

beseitigt. Nach genau $^1/_2$ Stunde wird das Kochen unterbrochen und die Masse durch den Asbest der Birne in eine Saugflasche abgesaugt. Diese Behandlung wird zweimal mit heißem Wasser wiederholt, darauf wird mit 200 *cm*³ einer 1·25⁰/₀igen Kalilauge gekocht und dann wiederum mit derselben Menge Wasser gekocht und mit heißem Wasser gewaschen.

Für Rohfaserbestimmungen eignet sich der von *Grégoire* und *E. Carpiaux*[1]) empfohlene Apparat (siehe Fig. 4). Ein großer Porzellangoochtiegel ist durch Kautschukdichtung einerseits mit einer zirka 1 *l* fassenden Glasbirne, andrerseits mit einem Trichter verbunden, an dem ein zirka 50 *cm* langer Gummischlauch hängt. Die Filtrierschicht besteht aus einer Lage Quarzsand und einer starken Lage langfaserigen Asbestes und wird durch einen Glasstab mit breitgedrücktem Ende festgehalten. Man kocht mit verdünnter Schwefelsäure etc., wie früher angegeben, wobei man das freie Ende des Gummischlauches hochstellt; bei der Filtration wird dieses dann gesenkt.

Fig. 4.



Roman Dmochowski und *B. Tollens*[2]) lassen nach der Schwefelsäure- bzw. Kaliumhydroxydbehandlung noch eine solche mit 25—40 *cm*³ Salpetersäure, spez. Gew. 1·15 folgen. Man erwärmt die Rohfaser 1 Stunde auf dem Wasserbad bei 80⁰, kocht dann die Masse nach dem Abfiltrieren so oft mit Wasser aus, bis die gelbe Farbe verschwunden oder heller geworden ist. Bei holzartigen, ligninreichen Substanzen behandelt man den Rückstand noch eine $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbade mit 2⁰/₀igem Ammoniak, saugt ab und kocht noch zweimal mit Wasser aus. Endlich wird filtriert in einem Goochtiegel, gewaschen, getrocknet und gewogen. Da die Reagenzien die Zellulose etwas angreifen, muß ein Korrektionsfaktor 1·1 angebracht werden. Die nach diesem Verfahren erhaltenen Präparate sind lignin- und pentosanfrei, enthalten nur Spuren von Stickstoff und lösen sich bis auf einige Prozente in Kupferoxydammoniak.

2. Bestimmung einer möglichst pentosanfreien Rohfaser nach *J. König.*[3])

3 *g* lufttrockene, bzw. 5—14⁰/₀ Wasser enthaltende Substanz werden in einem Kolben oder in einer Porzellanschale mit 200 *cm*³ Glyzerin von

[1]) *Ach. Grégoire* et *E. Carpiaux*, Apparat zur Bestimmung der Zellulose. Annales de chimie analytique appl. **15**. 254—257 (1910).

[2]) *Roman Dmochowski* u. *B. Tollens*, Journal für Landwirtschaft. 58. 1—20 (1910).

[3]) *J. König*, Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. 3. Aufl. 1906. S. 245.

1·23 spezifischem Gewicht, welches 2% konzentrierte Schwefelsäure enthält, versetzt, durch häufiges Schütteln bzw. Rühren mit einem Glasstabe gut verteilt und entweder am Rückflußkühler bei 133—135° eine Stunde gekocht, oder in einem Autoklaven bei 137° (= 3 Atmosphären) eine Stunde lang gedämpft. Darauf läßt man erkalten, verdünnt den Inhalt des Kolbens oder der Schale auf ungefähr 400—500 *cm*³, kocht nochmals auf und filtriert heiß durch einen Gooch-Tiegel. Den Rückstand wäscht man mit ungefähr 400 *cm*³ siedendem Wasser, darauf mit erwärmten verdünnten Alkohol und zuletzt mit einem erwärmten Gemisch von Alkohol und Äther aus und wägt nach dem Trocknen bis zur Gewichtskonstanz. Nach Abzug des nach dem Veraschen erhaltenen Rückstandes, erhält man als Differenz der beiden letzteren Wägungen die Menge der aschenfreien Rohfaser.

B. Behandlung des Rohproduktes mit oxydierenden Agentien.

1. Bestimmung durch Behandlung mit Chlor nach *Cross* und *Bevan*[1]) bzw. *Renker*.[2])

Die Methode liefert die höchsten Zahlen bei der Zellulosebestimmung. Sie hat den Vorteil, ein chemisch genau studierter Vorgang zu sein, der ziemlich frei von Nebenreaktionen verläuft und im wesentlichen nur in einer Chlorierung des Ligninbestandteiles besteht. Ferner zeichnet sie sich durch große Schnelligkeit und Einfachheit aus, allerdings nicht im Falle von stark verholzten Substanzen, wie die Holzarten. Doch ist auch hier ihre Ausführung, wenn auch etwas langwierig, immer noch kürzer als bei den meisten anderen Methoden und liefert dabei die höchsten Ausbeuten. Wesentlich ist bei der Ausführung der Bestimmung, daß die Substanzen nur so kurz wie unbedingt nötig der Einwirkung des Chlorgases ausgesetzt werden, da sich sonst sofort der zerstörende Einfluß desselben auf die eigentliche Zellulose bemerkbar macht. Am besten ermittelt man die dazu erforderliche Zeit durch einen besonderen Vorversuch.

Man befeuchtet die Substanz vorsichtig mit so viel Wasser, daß sie gerade davon durchdrungen wird, und setzt sie darauf in einem durch Eis gekühlten bedeckten Becherglase der Einwirkung eines langsamen, gewaschenen Chlorstromes aus. Die Dauer der Behandlung wechselt je nach der Art des Ausgangsmaterials. Man übergießt jetzt die Masse mit wässeriger schwefliger Säure bis zum Verschwinden des Chlorgeruches, filtriert durch einen gewogenen Gooch-Tiegel, wäscht ein- bis zweimal mit Wasser, bringt die Zellulose mittelst Pinzette in das Becherglas zurück und erwärmt mit 100 *cm*³ einer 2%igen Natriumsulfitlösung 1—2 Stunden auf dem Wasserbade. Darauf wird wiederum filtriert, mit heißem Wasser gewaschen, und wiederholt, wenn nötig, die Behandlung mit Chlor ein oder

[1]) *Cross* and *Bevan*, Cellulose, an outline of the Chemistry of the structural elements of plants. London 1903. S. 95.

[2]) *Max Renker*, Über Bestimmungsmethoden der Zellulose. Berlin 1910. S. 41—50.

mehrere Male, wobei man das Gas immer kürzere Zeit einwirken läßt. Darauf folgt ein kurzes Bleichen mit 0·1%iger Kaliumpermanganatlösung, Entfärben mit schwefliger Säure, gründliches Auswaschen der erhaltenen reinen Fasern mit kaltem und heißem Wasser, Trocknen und Wägen. Die so dargestellten Präparate sind frei von Oxyzellulose und von vorzüglicher Reinheit.

Ersatz des gasförmigen Chlors durch Chlorwasser ist nicht empfehlenswert und ergibt bedeutend niedrigere Ausbeuten.

2. Bestimmung durch Behandlung mit Bromwasser.

Auf derselben theoretischen Grundlage wie die beschriebene Chlorierungsmethode ruht das Verfahren von *Hugo Müller* [1], doch wird hier das Chlor durch das viel schwächer wirkende Brom ersetzt. 2 *g* der vorbehandelten Substanz werden in einer Stöpselflasche mit 100 *cm*³ Wasser übergossen und 5—10 *cm*³ einer verdünnten Bromlösung (4 *cm*³ Brom im *l*) zugegeben. Wenn die gelbe Farbe und der Geruch des Broms verschwunden ist, erneuert man den Zusatz und fährt in dieser Weise fort, bis die Flüssigkeit nach 12—24 Stunden noch ihre gelbe Farbe behält und unverbrauchtes Brom durch den Geruch wahrzunehmen ist. Die abfiltrierte Substanz wird dann gewaschen und mit verdünntem Ammoniak (4 *cm*³ im *l*) auf dem Wasserbade erhitzt. Die bromierten Ligninsubstanzen lösen sich darin mit brauner Farbe. Man filtriert, wäscht mit heißem Wasser und wiederholt, falls die Zellulose noch nicht weiß ist, die Behandlung so oft, bis das Gewebe zu einem blendend weißen Faserbrei zerfallen ist. Als Beweis für die Reinheit dient die Probe, daß die erhaltene Zellulose nach weiterem Stehen mit Bromwasser und darauf folgendem Behandeln mit Ammoniak keine Spur einer Färbung zeigt. Die erhaltene Zellulose ist sehr rein, fast frei von Oxyzellulose, doch sind die Ausbeuten niedriger als beim Verfahren der Chlorierung. Ein großer Nachteil der Methode ist außerdem die lange Zeitdauer und die zahlreichen Filtrationen, die ihre Ausführung mit sich bringt.

3. Bestimmung durch Behandlung von Kaliumchlorat und Salpetersäure nach *Fr. Schulze*. [2] Das Verfahren wird in dem Kreise der Pflanzenphysiologen sehr oft benutzt, und zwar in einer durch *Henneberg* [3]) verbesserten Form. 1 Teil des Rohproduktes wird mit 0·8 Teilen Kaliumchlorat und 12 Teilen Salpetersäure (1·10 spez. Gew.) 12—14 Tage im geschlossenen Gefäß bei einer Temperatur digeriert, die 15° nicht überschreiten darf, dann mit Wasser verdünnt filtriert und ausgewaschen. Hierauf behandelt man den Rückstand ³/₄ Stunden lang bei ungefähr 60° mit verdünntem Ammoniak (1 : 50), filtriert ab und wäscht weiter mit verdünntem, kaltem Ammoniak, bis die Flüssigkeit farblos abläuft; zum

[1]) *Hugo Müller*, *Hofmanns* Bericht über die Entwicklung der chemischen Industrie. **3**. 27. (1877).

[2]) *Fr. Schulze*, Beiträge zur Kenntnis des Lignins. Rostock 1856. Chem. Zentralbl. **1857**. 351.

[3]) *Henneberg*, Annalen der Chemie und Pharmazie. **146**. 130 (1868).

Schluß folgt Auswaschen mit heißem Wasser. Bei diesem Verfahren ist ebenfalls das Chlor das eigentliche wirksame Agens, doch wird seine Tätigkeit durch die niederen Stickoxyde unterstützt.

Die erhaltenen Zahlen sind niedriger als die nach anderen Methoden erhaltenen Resultate, woraus man auf einen Angriff der Zellulose schließen kann. Auch unter streng eingehaltenen Bedingungen erhält man Ausbeuten, die außerordentlich stark schwanken und deren Höhe wohl von der Menge der beigemengten färbenden Verunreinigungen abhängig ist. Abgesehen davon, sind die erhaltenen Produkte frei von Lignin und enthalten wenig Oxyzellulose.

4. Bestimmung durch Behandlung mit Salzsäure und Kaliumchlorat nach *W. Hofmeister.*[1]) Das Verfahren beansprucht weniger Zeit als die Methode von *Schulze-Henneberg.* Man behandelt das Rohprodukt mit Salzsäure von 1·05 spez. Gew. und fügt so viel festes Kaliumchlorat hinzu, als sich im Laufe der Reaktion löst. Man läßt dann bei gewöhnlicher Temperatur unter häufigem Schütteln stehen, bis alle Teile der Faser hellgelb geworden sind, was nach 24—36 Stunden der Fall ist. Eine längere Digestion oder die Gegenwart einer stärkeren Säure schadet nicht; dagegen darf die Temperatur nicht über 17·5° steigen. Die mit Wasser verdünnte Masse wird jetzt auf dem Wasserbade 1—2 Stunden mit Ammoniak digeriert, dann abgesaugt und mit kaltem, endlich mit heißem Wasser gewaschen.

Die erhaltenen Zahlen sind teilweise höher, teils niedriger, als die nach der *Schulze*schen Methode ermittelten, doch ist die Farbe der Präparate noch brauner als die der letzteren. Sonst ist die erhaltene Zellulose ligninfrei, aber sie enthält Oxyzellulose. Der Farbstoff läßt sich mit Permanganat oder Hypochlorit leicht beseitigen.

Beide der letzteren Bestimmungsmethoden 3. und 4. besitzen den Nachteil, daß jedes Kriterium für den Endpunkt der Reaktion fehlt, und leicht eintreten kann, daß, nachdem sämtliches Lignin oxydiert ist, der Angriff der eigentlichen Zellulosesubstanz beginnt. Dadurch erklären sich die stark wechselnden Ausbeuten.

* * *

Die übrigen Methoden der Zellulosebestimmungen sind noch weniger genau und führen zu undefinierbaren Produkten. Um einen Vergleich der nach den verschiedenen Verfahren gewonnenen Resultate zu ermöglichen, soll hier eine Tabelle folgen, die ich aus dem Werke von *Max Renker* entnehme, der sämtliche unten angeführten Methoden einer sorgfältigen Nachprüfung unterzog. In der Tabelle sind auch die oben nicht beschriebenen und nicht empfehlenswerten Methoden angeführt.

[1]) *W. Hofmeister,* Die Rohfaser und einige Formen der Zellulose. Landwirtsch. Jahrb. 17. 239—265 (1888).

Zusammenstellung der nach verschiedenen Verfahren erhaltenen Zelluloseausbeuten.

Verfahren	Material			
	Sulfitzellstoff	Jute	Holz	Baumwolle
	Prozente			
Glyzerinschwefelsäure nach *König* A, 2	74·15	—	—	—
Chlorgas nach *Cross* und *Bevan* B, 1	97·9	84·5	60·55	97·85
Konzentriertes Chlorwasser	97·65	83·4	57·1	94·7
Verdünntes Chlorwasser	98·0	81·1	—	96·8
Bromwasser nach *H. Müller* B, 2	98·1	83·3	57·95	97·1
Dasselbe mit der Modifikation von *Klason* [1])	96·6	80·8	51·85	95·45
Salpetersäure und Kaliumchlorat B, 3	98·05	79·2	58·1	96·95
Salzsäure und Kaliumchlorat B, 4	98·25	82·5	57·15	96·15
Salpetersäure nach *Cross* und *Bevan* [2])	97·65	79·75	53·6	96·35
Salpetrige Säure [3])	98·2	80·65	55·8	98·85
Salpeterschwefelsäure nach *Lifschütz* [4])	—	—	43·35	—
Kaliumpermanganat und Salpetersäure [5])	90·6	70·95	40·2	93·25
Kaliumpermanganat und Essigsäure	98·25	83·6	—	97·6
Kaliumpermanganat und Salzsäure	97·9	82·9	43·0	96·65
Wasserstoffsuperoxyd [6])	96·05	—	—	96·55
Natriumhypochlorit [7])	97·4	83·4	50·5	96·8
Phenol [8])	90·75	79·4	51·9	94·2

Hydrozellulose.

Bereitung von Hydrozellulose.[9]) Man tränkt Baumwollzellulose mit 3%iger Schwefelsäure, preßt die Masse ab, bis sie noch 35—40% ihres Eigengewichtes an Flüssigkeit enthält, läßt an der Luft trocknen und erhitzt in geschlossenen Gefäßen 8—10 Stunden auf 35—40° oder

[1]) *Klason*, 5. Internationaler Kongreß für angewandte Chemie. Bericht von *O. Witt*. **1**. 309 (1903).

[2]) *Cross* und *Bevan*, Zellulose. **1901**. S. 97.

[3]) *Carl G. Schwalbe*, Darmstadt, Verfahren zur Herstellung von Holzzellstoff. D. R. P. 204.460.

[4]) *J. Lifschütz*, Über die Einwirkung von Salpeterschwefelsäure auf Pflanzenfasern. Ber. d. Deutschen chem. Ges. **24**. 1186 (1891).

[5]) *S. Zeisel* und *M. J. Stritar*, Über ein neues Verfahren zur Bestimmung der Zellulose. Ber. d. Deutschen chem. Ges. **35**. 1252 (1902).

[6]) *Lebbin*, Über die Verwendbarkeit des Wasserstoffsuperoxyds in der Nahrungsmittelanalyse. Pharm. Zeit. **42**. 148 (1897); Arch. f. Hyg. **28**. 214 (1897); Zur Bestimmung der Zellulose. Bemerkungen zu der Arbeit von *C. Beck*. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. **3**. 407—408 (1900); Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. **3**. 539 (1900); *C. Beck*, Untersuchungen über einige Bestimmungsmethoden der Zellulose. Zeitschrift f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. **3**. 158—164 (1900).

[7]) *J. König*, Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen. **16**. 415 (1873).

[8]) *F. A. Bühler*, Verfahren zur Herstellung von Zellulose mittelst Phenolen. Die chemische Industrie. **26**. 138—140 (1903).

[9]) *Aimé Girard*, Mémoire sur l'hydrocellulose. Ann. de chim. et de physique [5]. **24**. 342 (1881).

3 Stunden oder mehr auf 70°. Jetzt folgt ein vollkommenes, sorgfältiges Auswaschen des Produktes, endlich Trocknung bei niedriger Temperatur.

Nachweis und wichtigste Eigenschaften der Hydrozellulose.

Zur Erkennung der Hydrozellulose kann die geringe mechanische Festigkeit, die Jodjodkaliumprobe, die geringe Hygroskopizität, vor allem aber das Reduktionsvermögen herangezogen werden.

Die Bildung der Hydrozellulose ist mit einer Aufnahme chemisch gebundenen Wassers verbunden, doch verläuft diese Reaktion hier ohne Formveränderung, indem unter dem Mikroskop selbst die zu Pulver zerfallene Hydrozellulose noch deutlich die Form der Baumwollfaser zeigt. Die Festigkeit der Substanz ist aber gegenüber derjenigen des Ausgangsmaterials sehr stark herabgesetzt. Hydrozellulose läßt sich leicht zu einem Pulver von sandigem Griff zerreiben.

Jodwasserstoff zersetzt sich bei der Einwirkung von Hydrozellulose. Durch Jodausscheidung färbt sich die Substanz braun; bei Zugabe von Wasser tritt Blaufärbung auf, bei Wasserüberschuß Entfärbung, bei Zugabe von Jodlösung wieder Blaufärbung. Durch Alkohol tritt ebenfalls Entfärbung ein. Ganz ähnlich ist das Verhalten der Hydrozellulosen zur Jodlösung. Wenn überhaupt Blaufärbung eintritt, so verschwindet sie auf Zusatz von Wasser fast augenblicklich, während bei den Hydratzellulosen die Färbung bestehen bleibt.

Das hygroskopische Wasser wechselt bei den verschiedenen Präparaten zwischen 1·2—5. Nur die aus hydratisierten Zellulosen bereiteten Hydrozellulosen haben höhere Hygroskopizitätszahlen. Demnach sind die Hydrozellulosen viel weniger hygroskopisch als Baumwollzellulose oder die Hydratzellulosen.

Die Bestimmung der Kupferzahl bei verschiedenen Hydrozellulosen ergab, daß sie sämtlich ein geringes, aber deutliches Reduktionsvermögen besitzen.

Folgende Zusammenstellung enthält einige Kupferzahlen und Hygroskopizitätszahlen von Hydrozellulosen verschiedenen Ursprungs nach *Schwalbe.* [1])

	Kupferzahl	Hygroskopisches Wasser
Hydrozellulose: Baumwollsatin in konzentrierter Schwefelsäure gelöst, mit Wasser gefällt . .	7·9	5·3
Hydrozellulose aus Baumwollsatin mit 45° Bé Schwefelsäure bereitet	3·9	6·3
Hydrozellulose aus Baumwollsatin mit Salzsäuregas	4·0	3·8
Hydrozellulose aus Filtrierpapier mit Salzsäuregas	5·7	1·2
Hydrozellulose aus Baumwollsatin mit 3%iger Schwefelsäure	5·6	3·6

[1]) *C. Schwalbe,* Zur Kenntnis der Hydro- und Hydratzellulosen. Zeitschr. f. angew. Chemie. **20.** 2170 (1907).

	Kupferzahl	Hygroskopisches Wasser
Hydrozellulose aus Verbandwatte mit 3%iger Schwefelsäure	5·2	—
Hydrozellulose aus Filtrierpapier mit 3%iger Schwefelsäure	6·2	3·8
Hydrozellulose aus Pergament mit 3%iger Schwefelsäure	8·7	6·0
Hydrozellulose aus mercerisierter Baumwolle mit 3%iger Schwefelsäure	8·8	6·3

Einige charakteristische Zahlen für Hydrozellulosen.[1])

Bezeichnung der Zellulose	Wassergehalt	Kupferzahl	Hydratkupfer (Alkalioxydkupfer)	Viskosität nach 24 Stunden	Viskosität nach 7 Tagen
10 *g* Verbandwatte, nach *Girard* mit 3%iger Schwefelsäure getränkt, auf 20 *g* abgepreßt, an der Luft getrocknet (Gewicht 10·2 *g*) und in verkorkten Flaschen 3 Stunden auf 70° erhitzt	5·8%	5·1	0·08	2·35°	2·15°
Wie das vorige Präparat, jedoch nur auf 30 *g* abgepreßt, Trockengewicht 10·6 *g*	6·1%	5·5	0·13	2·31°	2·15°
Verbandwatte mit 5 *g* konzentrierter Schwefelsäure in 100 *g* Eisessig übergossen und 2 Tage bei Zimmertemperatur (25°) hingestellt	—	4·0	0·12	2·53°	2·22°
Verbandwatte mit 1 *g* konzentrierter Schwefelsäure in 100 *g* Eisessig 3 Stunden auf 70° erhitzt	5·0%	4·2	0·14	2·41°	2·14°
Verbandwatte mit 3 *g* konzentrierter Schwefelsäure in 100 *g* Eisessig 3 Stunden auf 70° erhitzt	6·0%	4·4	0·11	2·44°	2·15°

Charakteristisch ist demnach die geringe Viskosität, was für eine chemische Veränderung der Zellulose, mit Verminderung des Moleküls, spricht.

Azidzellulose.[2])

Darstellung und Eigenschaften. 65 *g* Zellulose werden mit 30%iger Natronlauge in einer Schale übergossen, so daß sie von derselben bedeckt wird, und dann rasch zum Sieden erhitzt. Nach etwa einstündigem Kochen wird die Lauge erst abgegossen und die Masse mit durch Gummi-

[1]) *H. Ost,* Die Viskosität der Zelluloselösungen. Zeitschr. f. angew. Chemie. **24**. 1892—1896 (1911).

[2]) *G. Bumcke* und *R. Wolffenstein*, Über Zellulose. Ber. d. Deutschem. chem. Ges. 32. 2493—2507 (1899).

handschuhe geschützten Händen tüchtig ausgepreßt und mit warmem Wasser ausgelaugt. Die ganze Operation wird etwa achtmal wiederholt, wodurch sich die gesamte Zellulosemasse vollkommen auflöst. Aus den dunkel gefärbten Laugen, die durch Glaswolle sorgfältig filtriert werden, erhält man beim Ansäuern mit Schwefelsäure einen äußerst voluminösen Niederschlag von Azidzellulose. Sie läßt sich sehr schwer von den Mineralsubstanzen befreien. Nach dem Trocknen erhält man eine graue oder gelbliche Masse von hornartiger Beschaffenheit. Ausbeute 39%.

Man löst Zellulose in Kupferoxydammoniak, dann verdünnt man die Lösung soweit, als sie noch die Zellulose in Lösung hält und säuert das Filtrat unter Umrühren mit verdünnter Schwefelsäure.

Azidzellulose ist im feuchten Zustande in 8%iger Natronlauge klar löslich und fällt beim Neutralisieren wieder aus; sie ist unlöslich in Ammoniak. Sie besitzt saure Reaktion und bringt rote Phenolphtaleinlösung zur Entfärbung. Mit Jodjodkaliumlösung entsteht keine Bläuung, sie besitzt keine Reduktionswirkung, wie überhaupt keine aldehydischen Eigenschaften mehr. Sie löst sich in konzentrierter Salzsäure und wird dabei leicht hydrolysiert.

Oxyzellulosen.

Nachweis und charakteristische Eigenschaften der Oxyzellulosen.

Irgend eine Eigenschaft, die nur den Oxyzellulosen zuzuschreiben wäre, existiert nicht, um so mehr als die Präparate nie reine Oxyzellulosen darstellen, sondern Gemische von Hydro- und Oxyzellulosen, manchmal auch noch von Hydratzellulosen sind. Die Eigenschaften kehren mit Abstufungen teilweise bei den Hydro-, teilweise bei den Hydratzellulosen wieder. Man wird qualitativ doch mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit auf die Gegenwart von Oxyzellulosen schließen, wenn man sich nicht mit der Feststellung einer Eigenschaft begnügt, sondern eine ganze Reihe prüft.

Goldgelbfärbung mit Kalilauge. Alle Oxyzellulosen geben mit Alkalilösungen erwärmt eine charakteristische Goldgelbfärbung. Die Konzentration der Lauge ist aber nicht ohne Bedeutung. Bei Oxyzellulosen tritt die Goldgelbfärbung bei der Behandlung mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge auf, während Hydrozellulosen nur mit stärkeren Laugen und auch dann viel weniger intensiv die Kalilauge anfärben.

Reduktionsvermögen. Oxyzellulosen besitzen eine erhöhte Kupferzahl, die aber teilweise von der vorhandenen Hydrozellulose herrührt.

Verhalten gegen Farbstoffe. Oxyzellulosen werden durch Methylenblau und Safranin stark angefärbt, dagegen nehmen sie die substantiven Farbstoffe: Diaminblau 2 B, Erika oder Geranin nur in geringen Mengen auf.

Bei der Prüfung mit Methylenblau läßt man eine 1/2‰ Farbstofflösung eine Viertelstunde bei gewöhnlicher Temperatur auf das Präparat

einwirken und wäscht dann mehrere Stunden aus. Dabei zieht die Oxyzellulose den Farbstoff kräftig an und hält ihn auch bei längerem Auswaschen fest, während er von gewöhnlicher Zellulose an kaltes Wasser bald wieder abgegeben wird.

Aus der Tiefe der entstehenden Färbung, wie auch aus dem aufgenommenen Farbstoffgewicht kann man auf die Menge der Oxyzellulose schließen.

Reaktion mit Phenylhydrazin. Oxyzellulosen bilden mit Phenylhydrazinsalzen ein Osazon. Man benützt eine Mischung von 15 *g* Essigsäure, 24 *g* Phenylhydrazin in 200 cm^3 Wasser, die mit dem zu prüfenden Material kurze Zeit zum Kochen erhitzt wird. Darauf wird filtriert und ausgewaschen.

Die entstandene Gelbfärbung läßt einen Rückschluß auf den Oxydationsgrad zu.

Zur Unterscheidung der verschiedenen Oxyzellulosen dient ihr Verhalten gegen Natronlauge, Ammoniak bzw. Wasser.

α-Oxyzellulosen. Sie sind schwer löslich in Alkalien, unlöslich in Ammoniak.

β-Oxyzellulosen. Löslich in verdünnten Alkalien und Ammoniak.

γ-Oxyzellulosen. In frischem Zustande löslich in heißem Wasser; löslich in verdünnten Alkalien und in Ammoniak.

α-Oxyzellulose.

Darstellung nach *Murumow, Sack* und *Tollens.*[1])

Je 30 *g* Verbandwatte, 3 *l* Wasser, 100 *g* Kaliumchlorat und 1·25 cm^3 konzentrierte Salzsäure werden in einer Schale auf dem Wasserbade erhitzt; hierbei zerfällt die Baumwolle nicht genügend. Nach dem Zugeben von 20 *g* Kaliumchlorat und etwa $^1/_4$stündigem Erhitzen auf freiem Feuer ist die Masse zerfallen. Man kann auch direkt 30 *g* Baumwolle mit 3 *l* Wasser, 100 *g* Kaliumchlorat und 125 *g* konzentrierte Salzsäure auf freiem Feuer unter Umrühren erhitzen, bis die Faser zerfallen ist, was ungefähr $^3/_4$ Stunden dauert.

Die Masse wird auf der Nutsche ohne Schwierigkeit von der Flüssigkeit befreit; da sie beim darauffolgenden Aufgießen von Wasser aufschwellend das Wasser am Passieren hindert, wird sie mit 80%igem Alkohol angerührt, dieser nach einiger Zeit abgesogen, und das Anrühren und Absaugen unter Anwendung von stets stärkerem und zuletzt 95%igem Alkohol so lange wiederholt, bis keine saure Reaktion des Alkohols mit Lackmuspapier wahrnehmbar ist. Die Ausbeute beträgt 86% der angewandten Baumwolle.

Darstellung nach *A. Nastjukoff.*[2]) 30 *g* Filtrierpapier werden mit 1 *l* klarer Chlorkalklösung von 4° Baumé 24 Stunden stehen gelassen.

---

[1]) *J. J. Murumow, J. Sack* und *B. Tollens,* Über Oxyzellulose und Hydrozellulose. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **34**. 1427 (1901).

[2]) *A. Nastjukoff*, Über einige Oxyzellulosen und über das Molekulargewicht der Zellulose. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **33**. 2237 (1900).

dann das Papier herausgenommen und 24 Stunden der Wirkung der atmosphärischen Kohlensäure ausgesetzt. Dieselbe Behandlung wird noch einmal wiederholt. Dann wird das Papier mit Wasser und schwacher Essigsäure ausgewaschen und noch im feuchten Zustande in einem Liter 10%iger Natronlauge aufgelöst; die Dauer der Natronlaugewirkung beträgt 2—3 Tage. Aus der verdünnten, von dem ungelösten Rückstande abfiltrierten, alkalischen Lösung wird die Oxyzellulose mit Salzsäure ausgefällt und mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen. Dabei hält die Oxyzellulose die mineralischen Bestandteile stark zurück. Wird aber die getrocknete und gepulverte Substanz mit Wasser behandelt, so läßt sie sich leicht von den mineralischen Bestandteilen befreien.

Darstellung mit Brom und Calciumkarbonat nach *Faber* und *Tollens*.[1]) Man vermischt 250 *g* Baumwolle mit 4 *l* Wasser, 75 *g* Kalziumkarbonat und 50 *g* Brom in einer großen Schale und erwärmt am folgenden Tage unter gelindem Durcharbeiten auf dem Wasserbade, bis das Brom verschwunden und die Baumwolle einigermaßen zerfallen ist. Man bringt dann die Masse mit 50 *g* Brom und 75 *g* Kalziumkarbonat in einen großen Rundkolben in die Schüttelmaschine und erwärmt am dritten Tage mit noch 50 *g* Brom und 75 *g* Kalziumkarbonat. Man erhält eine breiige Masse, die auf einer Nutsche abgesogen und durch Anrühren mit erst 80%igem, dann 95%igem Alkohol, Abpressen, Absaugen und Auswaschen, schön weiß und pulverig wird. Es zeigt unter dem Mikroskop zahllose zerfallene Faserstückchen. Ausbeute 85—88% der Baumwolle an lufttrockener Oxyzellulose.

β-Oxyzellulose.

Darstellung mit Salpetersäure nach *A. Nastjukoff*.[2])

Man übergießt 1 Teil schwedisches Filtrierpapier von *Schleicher & Schüll* mit 2½ Teilen Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1·3, so daß das Papier nur kaum naß erscheint, und erhitzt in einem Kolben mit Rückflußkühler 1 Stunde auf dem Wasserbade; dann entfernt man die Salpetersäure durch Absaugen der Masse und wäscht sie mit kleinen Mengen Wasser aus. Durch Erhöhung der angewandten Salpetersäuremengen fällt die Ausbeute von 90%.

γ-Oxyzellulose.

Darstellung aus β-Oxyzellulose nach *A. Nastjukoff*.

Man trocknet β-Oxyzellulose (siehe dort), erwärmt sie mit 10 Teilen 10%iger Sodalösung 10—30 Minuten lang auf 70—100°, wäscht dann aus

[1]) *C. v. Faber* und *B. Tollens*, Untersuchungen über die Oxyzellulose. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **32**. 2589—2601 (1899).

[2]) *A. Nastjukoff*, Notiz über die Oxyzellulose. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **34**. 3589—3591 (1901).

und trocknet abermals. Dabei wird das Produkt besonders in siedendem Wasser löslich. Noch besser geht die Auflösung vor sich, wenn man die β-Oxyzellulose vor der Sodawirkung noch mit 10 Teilen 5%iger Schwefelsäure 1—3 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt.

Unterscheidungsmerkmale von β- und γ-Oxyzellulosen.[1])

Die β-Oxyzellulosen sind in frischem Zustande völlig löslich in siedendem Ammoniak zu einer milchigen Flüssigkeit. Sie sind löslich in verdünnten Alkalien mit goldgelber Farbe und werden daraus durch Säuren, Salze und Alkohol gefällt.

Die γ-Oxyzellulosen sind in frischem Zustande in heißem Wasser löslich. und sind aus den Lösungen mit Säuren, Alkohol und Neutralsalzen ausfällbar.

Die β-Oxyzellulosen und ihre Salze sind hart; die γ-Oxyzellulosen und deren Salze sind spröde.

Der Baryumgehalt beträgt bei den Baryumsalzen der β-Oxyzellulosen zirka 5%, bei den Baryumsalzen der γ-Oxyzellulosen nur zirka 1%.

Man bereitet die Baryumsalze durch Lösen des Ammonium- bzw. Natriumsalzes in Wasser, Fällen in der Hitze mit Chlorbarium, Auswaschen des Niederschlages mit heißem Wasser und Wiederholung der letzteren Operation mit dem getrockneten und hierauf fein zerriebenen Präparat. Löst man das Produkt in Ammoniak, so wird die filtrierte Flüssigkeit vor der Fällung so lange im Exsikkator über Schwefelsäure stehen gelassen, bis sie kein freies Ammoniak mehr enthält.

Beim Einengen von wässerigen Lösungen der Natriumsalze der γ-Oxyzellulosen auf dem Wasserbade oder im Exsikkator hinterbleiben glänzende, vom Glase leicht abtrennbare Häutchen. Beim Eindampfen von Lösungen der Natrium- sowie der Ammoniumsalze der β-Oxyzellulosen bilden sich derartige Häutchen nicht. Läßt man jedoch die Lösungen im Exsikkator eintrocknen. so bilden sich zwar Häutchen, doch sind dieselben von etwas anderem Habitus als bei den γ-Oxyzellulosen. Im Gegensatz zu den Salzen der γ-Oxyzellulosen büßen die Natriumsalze der β-Oxyzellulosen durch Trocknen bei 80—110° viel von ihrer Löslichkeit ein. Die Ammoniumsalze der β-Oxyzellulose, die man durch Eindunstenlassen ammoniakalischer Lösungen der β-Oxyzellulosen im Exsikkator über Schwefelsäure erhält, sind zunächst in heißem Wasser völlig löslich; nach dem Trocknen bei 80° lösen sie sich nicht mehr im Wasser, wohl aber noch im Ammoniak; nach dem Trocknen bei 80—110° geht auch die Löslichkeit in Ammoniak erheblich zurück.

---

[1]) *A. Nastjukoff*, Untersuchungen über die Oxyzellulosen. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **34**. 719—723 (1901). — Notiz über die Oxyzellulosen. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **34**. 3589—3591 (1901).

Hydratzellulosen.

Charakteristisch ist für Hydratzellulosen die hohe Hygroskopizität. Mit der Stärke der Hydratation (Mercerisierung) wächst die Hygroskopizität, wie dies die Zahlen von *Carl G. Schwalbe*[1]) beweisen.

	Hygroskopisches Wasser
Verbandwatte	6·6
Verbandwatte mit 8%iger Natronlauge mercerisiert	7·7
„ „ 16% „ „ „	10·7
„ „ 24% „ „ „	11·3
„ „ 40% „ „ „	12·1

Dieses hygroskopische Wasser wird bei 100° aber erst nach sehr langem Trocknen abgegeben.

Hydratzellulose nimmt aus 2%igen Lösungen von Natriumhydroxyd nach ½stündigem Schütteln um so mehr Alkali auf, je stärker die bei der Darstellung derselben angewandte Alkalikonzentration war. Durch Zurücktitrieren der 2%igen Lauge mit Schwefelsäure läßt sich demnach die Hydratation der Zellulose annähernd ermitteln, wie dies folgende Werte zeigen.[2])

Natronaufnahme von mit Lauge vorbehandelter Zellulose aus 2%iger Lauge.

Zellulose, nicht vorbehandelt	1·0% NaOH
„ vorbehandelt mit Lauge von 4%	1·0% „
„ „ „ „ „ 8%	1·4% „
„ „ „ „ „ 12%	1·8% „
„ „ „ „ „ 16%	2·8% „
„ „ „ „ „ 20%	2·8% „
„ „ „ „ „ 24%	2·8% „
„ „ „ „ „ 28%	2·9% „
„ „ „ „ „ 32%	2·9% „
„ „ „ „ „ 50%	2·9% „

Noch schärfer als durch Titration läßt sich die Hydratation (Mercerisationsgrad) mit Hilfe der *Schotten-Baumann*schen Reaktion bestimmen. Läßt man Zellulose, Benzoylchlorid und Natronlauge bei wechselnder Konzentration der Natronlauge aufeinander wirken, so zeigt sich, daß mit steigendem Gehalt der Lauge auch die Benzoësäurewerte größer werden. Vergleicht man diese Werte mit den Mengen der aus der entsprechenden Natronlauge aufgenommenen Mengen Natron, so ergibt sich folgender Zusammenhang.

---

[1]) *Carl G. Schwalbe,* Die Chemie der Hydratzellulose. Zeitschr. f. angew. Chem. **22**. 197—201 (1909).

[2]) *W. Vieweg,* Einwirkung kalter Natronlaugen auf Zellulose. Berichte der Deutschen chem. Gesellsch. **40**. 3876—3883 (1907).

	Aufnahme von NaOH (Mol.-Gewicht 40)	Von Benzoesäure (Mol.-Gewicht 122)	Mol.-Gewicht Verhältnis 1 : 3
In 4%iger Lauge	2·7	16	1:6
In 8%iger Lauge	4·1	24	1:6
In 12%iger Lauge	8·4	50	1:6
In 16%iger Lauge	13·0	78	1:6

Bestimmt man in den Benzoaten den Benzoësäuregehalt, so kann man durch Division des Wertes mit 6 den Gehalt an Natron bei der betreffenden Natronverbindung berechnen. Diese indirekte Bestimmung des Natrons ist sechsmal genauer, obschon umständlicher. Über 16%ige Lauge kann man nicht anwenden, da die Zähigkeit der reagierenden Massen zu groß ist. Die Benzoësäurewerte werden entweder durch Ausbeutebestimmung oder durch Verseifung mit alkoholischem Kali ermittelt.

Charakteristisch für Hydratzellulosen ist die geringe Kupferzahl (0·4 bis 2·0) und die verhältnismäßig hohe Hydrolysierungszahl. Die Differenz der beiden entspricht dem Hydrationsgrad (Mercerisationsgrad). Hydratzellulosen besitzen eine hohe Hydratkupferzahl (siehe dort), indem sie aus *Fehling*scher Lösung Kupfer aufsaugen und als Kupferalkalizellulose binden.

Die Verwandtschaft der hydratisierten Zellulose ist für Jod größer als diejenige der gewöhnlichen Zellulose. Wird die erstere mit Jod-Jodkaliumlösung durchtränkt, so behält sie ihre braune Farbe weit länger beim Trocknen an der Luft als gewöhnliche Baumwollzellulose, die man der gleichen Behandlung unterworfen hat.

Zum Nachweis von Hydratzellulosen empfiehlt *Hübner*[1]) Chlorzinkjodlösungen von folgender Zusammensetzung. Für Hydratzellulosen, die mit Laugen von 4·5—13·5% vorbehandelt waren, werden 280 *g* Chlorzink in 300 *cm*³ Wasser gelöst und zu 100 *cm*³ der Lösung 10 Tropfen einer Jodlösung zugefügt, die aus 1 *g* Jod, 20 *g* Jodkalium und 100 *cm*³ Wasser bereitet wurde. Für Hydratzellulosen, die mit Laugen von 13·5—27% vorbehandelt waren, empfiehlt sich ein Zusatz von nur 5 Tropfen der Jodlösung zur Chlorzinklösung.

Benutzt man das erste Reagens (mit 10 Tropfen Jodlösung), so erhält man bei den mit Natronlauge verschiedener Konzentration bereiteten Hydratzellulosen folgende Verfärbungen.

Keine Vorbehandlung, reine Zellulose: bleibt weiß.
Vorbehandlung mit 4·4%iger Natronlauge: sehr schwach bräunlich gefärbt.
„ „ 8·7%iger Natronlauge: deutlich unterscheidbar von der früheren Probe, mehr schokoladenfarben.
„ „ 10%iger Natronlauge: bräunlicher und etwas stärker gefärbt als bei 8·7%iger Natronlauge.

[1]) *Julius Hübner,* Neue Reaktionen zur Charakterisierung der mercerisierten Baumwolle. Proceedings Chem. Soc. **23**, 304 (1907); Journ. Soc. Chem. Ind. **27**, 105 bis 111 (1908); Chemiker-Zeitung. **32**, 220 (1908).

Vorbehandlung mit 11·4%iger Natronlauge: viel dunkler und bläulicher als bei 10%iger Natronlauge.

„ „ 13·3%iger Natronlauge: viel dunkler und rötlich blauer Farbton.

„ „ 17·7%iger Natronlauge: viel dunkler als bei den früheren Proben.

Chlorzinklösung mit 5 Tropfen Jodlösung versetzt:

Die Proben bei einer Vorbehandlung mit 13·3%iger Natronlauge bleiben weiß.

Vorbehandlung mit 13·3%iger Natronlauge: gerade schwach bläulich gefärbt.

„ „ 17·7%iger Natronlauge: sehr helles Blau.

„ „ 22·6%iger Natronlauge: viel stärkeres Blau.

„ „ 27%iger Natronlauge: praktisch gleich mit der früheren Probe.

„ „ 31·5%iger Natronlauge: heller.

Bereitet man sich eine Skala unter Verwendung von Hydratzellulosen bekannter Vorbehandlung wie Alkali, so kann man mit genügender Genauigkeit den Grad der Hydratation auf Grund der eintretenden Färbungen abschätzen.

Hydratisierte Zellulose, die in Benzopurpurin ausgefärbt wird, färbt sich mit Säure violett, während gewöhnliche mit Benzopurpurin gefärbte Zellulose blau wird. Fügt man zu den mit Säure übergossenen Proben Titanchlorid und erhitzt, so bleibt die gewöhnliche Zellulose blau, die hydratisierte wird dagegen rot. Diese Eigenschaft der Hydratzellulose, Benzopurpurin in größeren Mengen zu binden, kann zur annähernden Bestimmung des Hydratationsgrades dienen. Zu dem Zwecke wird die Menge des auffärbaren Farbstoffs bestimmt. Die gefärbte Hydratzellulose wird leicht gespült, im Kohlensäurestrom mit Salzsäure und einem gemessenen Volum Titanchlorür versetzt, gekocht bis zum völligen Verschwinden der Farbe und nach dem Erkalten, der Überschuß des Titanchlorürs mit Eisenalaun zurücktitriert, wobei Rhodankalium als Indikator dient.[1])

Hydratzellulosen lösen sich viel leichter in Kupferoxydammoniak und in Chlorzink als gewöhnliche Baumwollzellulose auf.

Aus den Ergebnissen der Viskositätsbestimmungen folgt, daß die Baumwolle durch das Mercerisieren chemisch nicht stark verändert wird. Die mercerisierten Zellulosen zeigen unter gleichen Bedingungen dieselbe hohe Viskosität und die Abnahme derselben erfolgt durch Lichtzufuhr genau so wie bei unveränderten Zellulosen. Eine wesentliche Veränderung erleidet aber die Baumwolle durch längere Einwirkung der 20%igen Natronlauge: nach 6 Monaten ist die Viskosität auf 7·5°, nach 2 Jahren auf 3·1° gesunken, und diese Proben lösen sich in Kupferoxydammoniak spielend leicht und dünn. Schon nach einstündigem Mercerisieren nimmt die Baum-

[1]) *Knecht,* Journal Society Dyers & Colourists. **24.** 27 (1908). — *Carl G. Schwalbe,* Die Chemie der Zellulose. Berlin 1910. S. 185.

Einige Konstanten für hydratisierte Zellulosen.[1])

Bezeichnung der Zellulose	Wassergehalt %	Kupferzahl	Hydratkupfer (Alkalioxyd) Kupfer	Viskosität nach 24 Stunden	Viskosität nach 48 Stunden	Viskosität nach 7 Tagen
Baumwolle 1 Stunde mit 20%iger Natronlauge kalt mercerisiert[2])	9·28	0·64	1·13	36·6°	—	4·6°
Dasselbe	9·28	0·64	1·13	—	37·2	6·0°
Verbandwatte mit 20%iger Natronlauge mercerisiert, abgepreßt und in Stöpselflasche 6 Monate aufbewahrt[2])	9·83	1·09	1·22	7·5°	—	4·6°
Verbandwatte ebenso behandelt und 2 Jahre aufbewahrt[2])	8·24	1·01	0·79	3·1°	—	2·6°
Baumwolle mit 25%iger Natronlauge getränkt und in offener Schale 9 Stunden auf 90—100° erhitzt. Dabei geht die größere Hälfte in natronlösliche Azid- oder Oxyzellulose über	9·46	2·12	0·76	1·7°	—	1·63°
Kunstseide (Kupferseide) der Vereinigten Glanzstofffabriken Elberfeld vom Jahre 1911	10·44	2·03	2·12	4·0°	—	3·0°
Dieselbe vom Jahre 1907	10·37	2·06	1·65	5·0°	—	3·5°
Viskoseseide von *Cross & Bevan* vom Jahre 1904	9·18	1·92	1·79	3·8°	—	2·9°

wolle den hohen Wassergehalt an, wird durch Jod gebläut und durch Farbstoffe leichter angefärbt; aber diese Veränderung ist rein physikalischer und so oberflächlicher Art, daß die Viskosität nicht darunter leidet. Erst durch andauernde Laugenwirkung tritt eine tief eingreifende, anscheinend chemische Veränderung ein, die sich bei ziemlich gleicher Wasseraufnahmefähigkeit und Kupferzahl in der gewaltig gesunkenen Viskosität äußert. Noch stärker vollzieht sich diese Veränderung durch Erhitzen der Baumwolle mit den starken Laugen auf 90—100°, wobei die Faser völlig zerfällt (aber in den Trümmern die faserige Struktur noch erkennen läßt) und die größere Hälfte in alkalilösliche Azid- bzw. Oxyzellulose übergeht. Auf Grund dieser Beobachtungen schlägt *H. Ost*[3]) vor, den Namen Hydrat-

[1]) *H. Ost*, Die Viskosität der Zelluloselösungen. Zeitschr. f. angewandte Chemie. **24**. 1892—1896 (1911).

[2]) Die Proben waren mit Lauge, dann mit Wasser sorgfältig ausgewaschen und an der Luft getrocknet.

[3]) *H. Ost*, *F. Westhoff* und *L. Gessner*, Zellstoffviskose und Stärkeviskose. *Liebig*s Annalen. **382**. 354 (1911); Die Viskosität der Zelluloselösungen. Zeitschr. f. angewandte Chemie. **24**. 1892—1896 (1911).

zellulose für die mercerisierte Zellulose fallen zu lassen, dagegen nur für die durch anhaltende Einwirkung starker Laugen chemisch veränderte Zellulose, welche dünnere Kupferoxydammoniaklösungen und dünnere Viskose liefert, die Bezeichnung „alkalisierte Zellulose" oder kürzer „Alzellulose" anzuwenden.

Lignozellulose und Lignin.

Darstellung von Lignozellulose aus Holz.[1])

Fein geschliffenes Aspenholz (Populus trenula, Zitterpappel, Espe) wird zunächst in Wasser aufgeweicht und nochmals fein zerrieben. Nach etwa 36stündigem Stehen mit Wasser wird die Masse in 5%ige Salzsäure gebracht und unter häufigem Umrühren 1—1½ Tage stehen gelassen. Sodann wird sie mit Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion ausgewaschen, getrocknet und mit Alkohol und Äther extrahiert. Darauf folgt eine Behandlung mit 5%igem Ammoniak und nach nochmaligem Auswaschen wird das Produkt der Einwirkung von Natronlauge, um den Holzgummi zu entfernen, ausgesetzt. Zu dem Zwecke wird auf der Nutsche abgesaugt, gepreßt, feucht zerrieben und mit 10%iger Natronlauge übergossen. Auf 1 *kg* des rohen Holzschliffs benutzt man 1500 *g* Ätznatron in 15 *l* Wasser. Die breiartige Masse wird gut umgerührt und wenigstens 36 Stunden stehen gelassen. Zur völligen Entfernung der gelösten Stoffe und des besseren Filtrierens wegen ist es sehr zweckmäßig, möglichst stark zu verdünnen (aufs 5—6fache). Man läßt absitzen, hebert die Flüssigkeit ab, ersetzt sie mit Wasser und wiederholt das Dekantierverfahren noch 5—6mal. Das Absitzen erfolgt jetzt schon sehr rasch und die Flüssigkeit läßt sich leicht und schnell filtrieren. Auf der Nutsche mit Wasser nachgewaschen und abgepreßt, kommt der Rückstand sofort in frische Natronlauge und wiederholt die ganze erwähnte Operation im ganzen 6mal. Dabei ist der Holzgummi bis auf Spuren entfernt, was man daran erkennt, daß eine Probe der Lauge, mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt, erst nach längerem Stehen eine Spur einer flockigen Fällung gibt.

Der abgesaugte und gepreßte Rückstand wird in 5%iger Salzsäure 36 Stunden stehen gelassen, dann wird wieder auf der Nutsche filtriert und bis zum Verschwinden der Chlorreaktion gewaschen. Schließlich läßt man das Produkt 24 Stunden mit Wasser stehen, um jede Spur von Säure zu entfernen, und endlich wird nach dem Trocknen nochmals mit Alkohol und mit Äther ausgezogen. Die Ausbeute beträgt 55% des angewandten Holzschliffes.

---

[1]) *G. Lange,* Zur Kenntnis des Lignins. Zeitschr. f. physiol. Chem. **14.** 15 (1890); *K. Fromherz,* Über die Furol und Methylfurol liefernden Bestandteile der Lignozellulose. Zeitschr. f. physiol. Chem. **50.** 209—240 (1907).

Sie weisen mit wenigen Ausnahmen auf ein Gemisch von Vanillin, Methylfurfurol, Coniferin usw. hin, die aber wahrscheinlich nur charakteristische Spaltungs- oder Nebenprodukte des Lignins sind.[1])

Mit wässerigen oder alkalischen Lösungen vieler Phenole und verschiedenen aromatischen Substanzen entstehen in Gegenwart von konzentrierter Salzsäure intensive Färbungen:

Ligninreaktionen.

Phenol	Blaugrün
Resorcin	Violett
Brenzkatechin	Grünlichblau
Phloroglucin	Violettrot
Pyrogallol	Blaugrün
Orcin	Violettrot
Guajakol	Gelbgrün
Kresol	Grünlich
α-Naphthol	Grünlich
Thymol	Grün
Anisol	Grünlichgelb
Anethol	Grünlichgelb
Indol	Kirschrot
Skatol und Carbazol	Kirschrot
Pyrol	Rot

Zusatz von Calciumchlorat verstärkt oft die Reaktion.

Viele aromatische Basen, z. B. Anilinsalze, Paratoluidin, Xylidin, Metaphenylendiamin, α- und β-Naphtylamin geben in neutraler oder angesäuerter Lösung Gelbfärbung.

Unter den angeführten Reaktionen wird meistens die von *Wiesner*[2]) vorgeschlagene Ligninreaktion mit Phloroglucin in Salzsäure (spez. Gew. 1·06) gelöst ausgeführt.

Löst man 2% p-Nitranilin in Salzsäure von 1·06 spez. Gew., so erzeugen ligninhaltige Substanzen beim Erwärmen mit dem Reagens eine feuerrote Farbe.[3])

Lignochloridreaktion von *Cross* und *Bevan*.[4]) Man behandelt die zu untersuchende befeuchtete Substanz mit Chlorgas, wäscht sie aus und legt sie in eine verdünnte Natriumsulfitlösung ein. Dabei nimmt die ligninhaltige Substanz eine himbeer- bis bordeauxrote Farbe an.

---

[1]) *Viktor Grafe*, Untersuchungen über die Holzsubstanz vom chemisch-physiologischen Standpunkte. Monatsh. f. Chem. **25**. 987 (1907).

[2]) *J. Wiesner*, Sitzungsber. d. Wiener Akad. **77**. I. 60 (1878).

[3]) *Albert Bergé*, Neues Reagens auf Holzstoff. Bull. de la soc. chim. de Belgique. **20**. 158—159 (1906). *Alvin S. Wheeler*, Eine neue Farbenreaktion der Lignozellulosen. Ber. d. Deutschen chem. Ges. **40**. 1888 (1907).

[4]) *Cross* u. *Bevan*, Zellulose. S. 115.

Ligninreaktion von *Mäule*.[1]) Beruht ebenfalls auf einer Chlorierung der Ligninbestandteile. Man läßt das Produkt einige Minuten mit verdünnter Kaliumpermanganatlösung in Berührung, wäscht darauf aus und bringt es in verdünnte Salzsäure (1·06 spez. Gew.). Hat sich der auf das Produkt niedergeschlagene Braunstein völlig gelöst, so filtriert man ab, wäscht aus und betupft es mit einem Tropfen Ammoniak. Die Gegenwart des Lignins verrät sich durch eine tiefrote Färbung. Beide letzteren Reaktionen sind außerordentlich empfindlich, denn sie zeigen die Gegenwart des Lignins auch in Fällen an, wo die Färbungen mit Phenolen, Aminen etc. versagen.

Bestimmung der Lignozellulose bzw. Lignins nach dem Phlorogluzinverfahren von *Cross, Bevan* und *Briggs*.[2])

Bei der Einwirkung von Phlorogluzin in Gegenwart von Salzsäure auf die Lignozellulose handelt es sich um zwei verschiedene Reaktionen: 1. um die Bildung eines rot gefärbten Körpers; die Grenze dieser Reaktion wird bereits bei einer weniger als 1% Lignozellulose betragenden Phenolmenge erreicht; 2. um die weitere Vereinigung mit Phlorogluzin, wobei sich eine Substanz bildet, die beim Waschen mit Wasser nicht zerlegt wird.

Auf Grund dieser Beobachung ließ sich ein Titrationsverfahren ausarbeiten, wobei aus der Differenz von zwei genau unter denselben Bedingungen ausgeführten Phlorogluzinbestimmungen die von der Lignozellulose aufgenommene Phlorogluzinmenge ermittelt werden kann. Die erhaltene Zahl gibt den Gehalt an Lignozellulose des zu untersuchenden Präparates an.

Erforderliche Lösungen. 1. Eine Lösung von 2·5 *g* reinem Phlorogluzin in 500 cm^3 verdünnter Salzsäure vom spez. Gew. 1·06; 2. eine Lösung von 2·0 *g* Furfurol in 500 cm^3 Salzsäure vom spez. Gew. 1·06 oder 3. eine Lösung von 2 cm^3 eines 40%igen Formaldehyds in 500 cm^3 Salzsäure vom spez. Gew. 1·06.

Digestion. 2 *g* fein zerkleinerter Lignozellulose, deren Wassergehalt in einer besonderen Probe genau ermittelt war, werden genau abgewogen. Die Substanz wird dann in einen trockenen Kolben gegeben und sofort mit 40 cm^3 Phlorogluzinlösung bedeckt. Der verkorkte Kolben wird geschüttelt und dann einige Stunden, am besten über Nacht, stehen gelassen. Am Morgen wird die Flüssigkeit durch einen sehr kleinen, im Trichterhals angebrachten Baumwollpfropfen abfiltriert und 10 cm^3 hiervon mit einer Pipette abgemessen und in einen Filtrierkolben gegeben.

Titration. Die 10 cm^3 der Lösung werden mit 10 cm^3 Salzsäure vom spez. Gew. 1·06 verdünnt und ungefähr auf 70° C erwärmt. Die Furfurol-

[1]) *V. Grafe*, Untersuchungen über die Holzsubstanz vom chemisch-physiologischen Standpunkte. Monatsh. f. Chem. **25**. 1025 (1904).

[2]) *C. F. Cross, E. J. Bevan* und *J. F. Briggs*, Über die Farbenreaktionen der Lignozellulosen. Berichte d. deutschen chem. Gesellsch. **40**. 319—3126 (1907); Lignon-Phlorogluzidbildung ohne Farbenreaktion. Quantitative Bestimmung des Holzschliffs. Chemiker-Zeitung. **31**. 725—727 (1907).

oder Formaldehydlösung wird dann aus einer Bürette in Mengen von je 1 *cm*³ mit einem Male zugegeben. Nach jedesmaligem Zugeben der Dosis läßt man die Flüssigkeit 2 Minuten stehen, ehe man sie prüft, wobei die Temperatur konstant auf 70° gehalten wird. Der Fortgang der Reaktion wird dadurch verfolgt, daß man einen Tropfen der Flüssigkeit ohne vorherige Filtration auf das Indikatorpapier bringt. Als letzteres wird am besten halbgeleimtes Zeitungspapier angewandt.[1]) Man läßt den Tropfen 10 Sekunden lang einwirken und schleudert ihn ab. Ein roter Fleck wird alsdann sichtbar, solange noch unausgefälltes Phloroglucin vorhanden ist. Gegen das Ende der Titration wird die Flüssigkeit nur in Mengen von je 0·25 *cm*³ hinzugegeben, indem man nach jeder Zugabe eine Pause von 2 Minuten vor der Prüfung eintreten läßt. Nahe am Endpunkte der Reaktion erscheint der rote Fleck immer langsamer auf dem Indikator und man muß schließlich die feuchte Stelle trocknen, indem man sie ungefähr eine Minute lang in einer Entfernung von 20 *cm* über die Flamme eines Bunsenbrenners hält, um den Fleck beobachten zu können. Die Titration ist beendet, wenn kein roter Fleck mehr hervorgerufen wird.

Nach der Titration werden 10 *cm*³ der ursprünglichen Phlorogluzinlösung in genau derselben Weise zur Kontrolle titriert und die Menge des durch die Lignozellulose absorbierten Phlorogluzins wird aus der Differenz der beiden Titrationsergebnisse berechnet. Dieser Phlorogluzin-Absorptionswert wird dann in Prozenten des Trockengewichtes der Lignozellulose ausgedrückt.

Bestimmung des Lignins durch Ermittlung der Methylzahl.[2])

Das Verfahren beruht auf der Bestimmung der im Lignin enthaltenen Methoxylgruppen. Man benutzt zu diesem Zwecke den von *Benedikt* und *Grüßner* beschriebenen Apparat.

Man wägt 0·3—0·6 *g* der fein geraspelten, lufttrockenen Substanz und ermittelt den Gehalt an Methoxyl; gleichzeitig führt man eine Wasserbestimmung durch Trocknen bei 100° aus.

Schulze[3]) hat den Ligningehalt verschiedener vegetabilischer Produkte aus dem Gewichtsverluste berechnet, welchen dieselben bei der Mazeration mit Kaliumchlorat und Salpetersäure erleiden.

Nimmt man den von *Schulze* für die Eiche gefundenen Ligningehalt von 54·1% als richtig an und berücksichtigt man, daß Eichenholz die Methylzahl 28·6 hat, so kommt dem reinem hypothetischen Lignin die Methylzahl 52·9 zu.

---

[1]) Ein Tropfen einer Phlorogluzinlösung, die 1 : 30.000 verdünnt ist, ruft auf dieses Papier in einer Minute einen roten Fleck hervor.

[2]) *Rudolf Benedikt* und *Max Bamberger*, Über eine quantitative Reaktion des Lignins. Monatsschrift für Chemie. **11.** 260 (1890).

[3]) *Fr. Schulze,* Beitrag zur Kenntnis des Lignins. Rostock 1856. Chemisches Zentralblatt. **1857.** 321.

Die mit dieser hypothetischen Methylzahl des Lignins berechneten Ligningehalte der Nußschale und einiger Hölzer sind in der folgenden Tabelle mit den Zahlen verglichen, welche *Schulze* gefunden hat.

Material	Methylzahl im Mittel	Ligningehalt	
		nach *Benedikt* und *Bamberger*	nach *Schulze*
Nußschalen	37·4	70·0	65·9
Steineiche	28·6	54·1	54·1
Erle	28·9	54·6	52·0
Weißbuche	26·4	49·9	51·6
Akazie	24·2	45·9	47·0
Kiefer	21·3	40·3	42·0

Zwischen den von *Schulze* und von *Bamberger* und *Benedikt* gefundenen Werten ist sicher eine gewisse Übereinstimmung, namentlich in bezug auf die Reihenfolge der Abnahme des Ligningehaltes, nicht zu verkennen.

Unter Methylzahl, die zur Charakterisierung des Ligningehaltes dient, versteht man den Gehalt einer Substanz an durch Jodwasserstoffsäure abspaltbarem Methyl, ausgedrückt in Zehntelprozenten.

Um bei Hölzern konstante Methylzahlen zu erhalten, ist es notwendig, das Kühlwasser auf 80—90° zu erhalten, indem neben Methyljodid noch eine geringe Menge einer höher siedenden Substanz zu übergehen scheint.

Die Methylzahlen der meisten bisher untersuchten Holzgattungen liegen zwischen 20—31 (auf getrocknetes Holz bezogen). Die Methylzahlen einer und derselben Holzgattung zeigen meist nur geringe Abweichungen. Die mit Wasser, Alkohol und Äther extrahierten Hölzer geben nahezu dieselben Methylzahlen wie die nicht extrahierten.

Bestimmung der Methylzahl mit dem Apparate von *Benedikt* und *Grüßner*.[1])

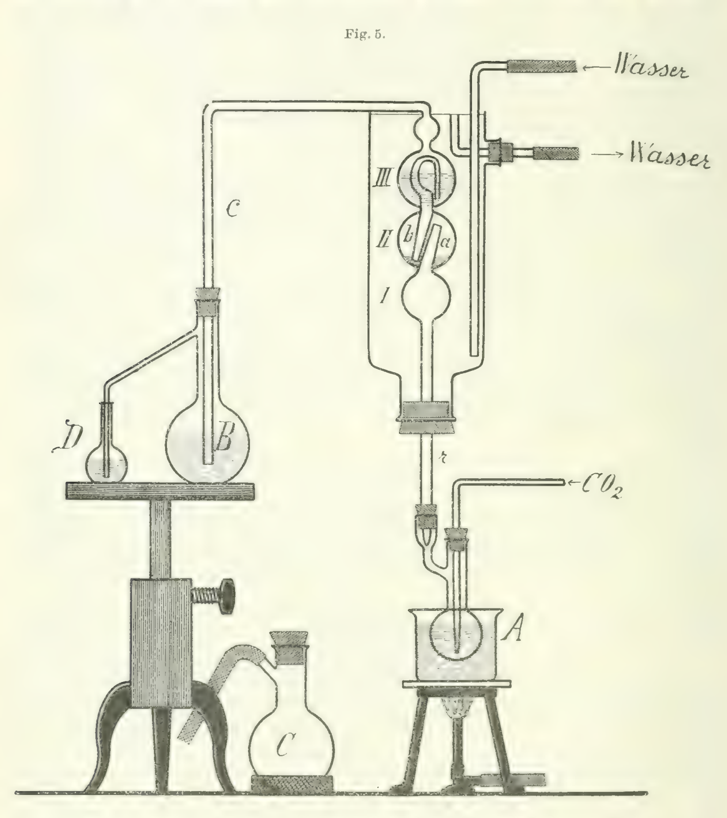
Der Apparat (siehe Fig. 5) besteht aus drei Teilen, nämlich dem Kölbchen, in welchem die Substanz mit Jodwasserstoffsäure gekocht wird, einem Kugelapparate, welcher zugleich als Rückflußkühler und Waschapparat dient, und einem oder zwei Kölbchen, welche zur Aufnahme der Absorptionsflüssigkeit bestimmt sind.

Der Kugelapparat besteht zunächst aus dem 24—25 *cm* langen, etwa 0·8 *cm* weiten Rohr *r*, welches aus seinem unteren Ende in die Länge von einigen Zentimetern etwas verjüngt ist. Das Rohr *r* steht mit der Kugel *I*, welche zirka 30 cm^3 faßt, und diese mit der Kugel *II* in Verbindung. In die letztere sind zwei Röhrchen eingesetzt, von welchen sich das eine (*b*) in die dritte Kugel fortsetzt und dort bis nahe an deren Boden zurückgebogen

[1]) *Rudolf Benedikt* und *Anton Grüßner*, Zur quantitativen Bestimmung von Methoxyl. Chemiker-Zeitung. **13**. 872—873 (1889).

ist. Ebenso muß das untere Ende von b so nahe als möglich an die tiefste Stelle von II reichen. Die Kugeln II und III sind gleich groß und haben 80—100 cm^3 Inhalt. An III schließt sich das erst nochmals zu einer kleinen Kugel aufgeblasene und dann zweimal rechtwinklig gebogene Glasrohr c an. Die Kugel III kann auch durch zwei kleinere übereinander stehende

Fig. 5.



Kugeln ersetzt werden, deren jede mit dem in III enthaltenen, erst aufsteigenden, dann nach abwärts gekrümmten Rohre versehen ist.

Der Kugelapparat wird ein für allemal mittelst Kautschukpfropfens in das Kühlgefäß eingesetzt, dieses sodann in passender Weise an einem Stativ befestigt und mit Wasser von 80—90° gefüllt. Nun bringt man in die aus einem gewöhnlichen Destillierkolben von zirka 150 cm^3 Inhalt gefertigte Waschflasche C etwa 0·5 g möglichst fein zerriebenen roten Phosphor und etwas

Wasser, schiebt dieselbe mit Hilfe des in ihren Hals eingesetzten, an das Rohr *c* nur lose anschließenden Pfropfens über dieses Rohr und treibt ihren Inhalt durch Einblasen in die Kugel *III*, von wo die Flüssigkeit nach *II* abfließt. Man spült auf dieselbe Weise mit so viel destilliertem Wasser nach, bis *II* zur Hälfte erfüllt ist; nun wäscht man das Rohr *c* aus, indem man reines Wasser durch abwechselndes Blasen und Saugen an der Waschflasche bis zu seiner oberhalb der Kugeln befindlichen zweiten Biegung steigen und wieder vollständig aus dem Rohre austreten läßt, bis der an den Wänden haftende Phosphor vollständig entfernt ist.

Das kugelförmige Kölbchen *A*, das zur Aufnahme der Substanz dient, ist von 30—35 *cm*³ Inhalt und ist durch ein in der oberen Hälfte seines Halses schief nach oben angesetztes weites Rohr mit einem zweiten Halse in Verbindung gebracht. In den ersten ist mittelst eines gut schließenden Korkes ein rechtwinklig gebogenes, unten verengtes Glasrohr eingesetzt, welches bis nahe an den Boden reicht und den Eintritt von Kohlensäure in den Apparat vermittelt. In die andere Öffnung ist das Ende des zum Kugelapparate gehörigen Rohres *r* luftdicht eingesetzt.

Man wägt 0·3—0·6 *g* Substanz in das Kölbchen ein, fügt 10 *cm*³ Jodwasserstoffsäure von 1·70 spez. Gew., welche vorher mit 8°/₀iger Essigsäureanhydrid versetzt wurde, hinzu, verbindet mit dem Rohr *r* und dem Kohlensäureapparate und leitet einen langsamen Gasstrom ein. Nun wird der Absorptionsapparat an *c* befestigt. Als solcher eignet sich am besten ein Destillierkolben von zirka 120 *cm*³, aus welchem man das Gas durch das an den Hals angeschmolzene und nach abwärts gebogene Rohr noch in ein zweites kleines offenes Kölbchen leiten kann.

In den größeren Kolben bringt man 5 *cm*³ einer 40°/₀igen Lösung von Silbernitrat und 50 *cm*³ fuselfreien 95°/₀igen Alkohol, in den kleineren 1 *cm*³ Silberlösung und 10 *cm*³ Alkohol. In den meisten Fällen genügt ein einziger Kolben. Spuren von Jodsilber, die sich zuweilen in den zweiten Kolben ausscheiden, sind nicht wägbar.

Hat man alles vorgerichtet, so wird der Kolben *A* erwärmt. Es eignet sich am besten dafür ein Glyzerinbad. Die Kühlung des Kugelapparates mit heißem Wasser bewirkt man am einfachsten dadurch, daß man eine Heizvorrichtung in das Zuleitungsrohr einschaltet. Dieselbe besteht aus einem Metall- oder Glaskolben mit doppelt durchbohrtem Gummipfropfen. Das kalte Wasser tritt durch ein rechtwinklig gebogenes Rohr nahe am Boden des Kolbens ein und durch ein ebensolches, unmittelbar unter dem Pfropfen abgeschnittenes Rohr aus und gelangt dann durch einen Kautschukschlauch in das Kühlgefäß. Der Heizkolben wird mit einem starken Brenner erhitzt. Aus dem Kühlgefäße fließt das Wasser durch eine seitliche Tubulatur aus. Damit der Kugelapparat möglichst vollständig eingetaucht sei, steckt in dem Tubus ein bis nahe an den Rand des Kühlgefäßes nach aufwärts gebogenes Rohr. Doch kann man die Tubulatur auch ganz entbehren und das Wasser durch einen Heber ausfließen lassen, dessen in das Gefäß reichender Schenkel ganz kurz abgeschnitten ist.

während der längere mittelst Kautschukschlauch mit dem Ausguß verbunden ist. Wenn man das Wasser nicht sehr rasch nachfließen läßt, hat man ein Überfließen nie zu befürchten; der Heber funktioniert auch bei ganz kleinem Wasserzuflusse kontinuierlich, indem dann mit dem Wasser reichlich Luft abgesaugt wird.

Aus der in *A* siedenden Flüssigkeit steigen die mit Kohlensäure gemischten Dämpfe zunächst in das Rohr *r* und die Kugel *I*, woselbst sich die Jodwasserstoffsäure nahezu vollständig mit dem Wasserdampf kondensiert und zurückfließt, während sich das Jod, falls es in größeren Mengen gebildet wurde, in Kristallen in der Kugel absetzt. Die Jodmethyldämpfe werden mit wenig Jod durch die Kohlensäure durch das Rohr *a* nach *II* geführt und das darin enthaltene Wasser samt dem größten Teile des roten Phosphors durch *b* nach *III* gedrängt. Endlich passieren die Gase die Kugel *III*, in welcher die letzten Anteile des Jods zurückgehalten werden, und gelangen durch *c* in die Silberlösung, von welcher das Jodmethyl begierig aufgenommen wird, und darin einen weißen, aus Silberjodid-Silbernitrat bestehenden kristallinischen Niederschlag erzeugt. Wenn sich die Flüssigkeit nach 1—2stündigem Durchleiten von Kohlensäure über dem Silberniederschlage völlig geklärt hat, entfernt man die Kolben *B* und *D* und stellt sie beiseite. Dann nimmt man den Kolben *A* ab und sammelt zunächst die an der Innenwandung des Rohres *c* haftenden Teilchen des Niederschlages. Zu diesem Zwecke spült man *c* mit Hilfe der Waschflasche *C* in der oben beschriebenen Art mit reinem Wasser aus. Wenn nötig, löst man anhaftende Teilchen mit einer Federfahne von der Innenseite des Rohres los.

Der Inhalt der Waschflasche wird sodann in ein etwa 200 cm^3 fassendes Becherglas gespült. Die in dem Kolben *B* (und *D*) befindliche alkoholische Flüssigkeit wird vom Silberjodid-Silbernitrat in ein Becherglas von 500 cm^3 Inhalt dekantiert, noch 2—3mal mit je 30 cm^3 Wasser umgeschwenkt und nach dem Absitzenlassen vom gelben Jodsilber abgegossen. Das letztere wird in das kleinere Becherglas gespült, mit 20 cm^3 verdünnter Salpetersäure (1 : 1) versetzt und erwärmt. Die alkoholische Flüssigkeit in dem größeren Becher wird mit Wasser auf ca. 300 cm^3 verdünnt, mit einigen Tropfen verdünnter Salpetersäure versetzt, durch Erhitzen von Alkohol befreit und schließlich wieder mit heißem Wasser auf 300 cm^3 gebracht. Endlich sammelt man den Jodsilberniederschlag auf dem Goochtiegel, trocknet und wägt.

Der Apparat kann sofort zu einer zweiten Bestimmung verwendet werden. Ist es nach ein- oder mehrmaligem Gebrauche schon stark verunreinigt oder wünscht man die Füllung des Kugelapparates zu erneuern, so verfährt man wie folgt.

Man füllt die Wasserflasche *C* mit Alkohol, schiebt sie über das Rohr *r* und läßt durch Anblasen mit dem Munde so viel Alkohol in den Apparat steigen, daß ein Teil desselben schon in die Kugel *II* eingetreten ist. Man läßt die Flüssigkeit in die Flasche zurückfließen, verbindet *r* mit

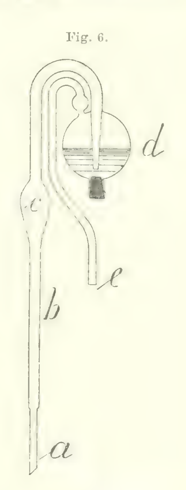
der Wasserleitung und läßt 1–2 *l* Wasser durch den Apparat fließen, welches man samt dem herausgeschlämmten Phosphor in einem unter *r* gestellten großen Becherglase auffängt. Man hält nun ein kleines Glas unter *r*, läßt das Wasser abfließen, setzt einen Kautschukschlauch an *r* an und bläst das in II befindliche Wasser nach der Kugel *III*, aus welcher man es nach Umkehren des Apparates leicht vollständig herausblasen kann. Dann füllt man die Kugel in der oben beschriebenen Weise neuerdings mit Wasser und Phosphor.

Methylzahlbestimmung mit Hilfe des Apparates von *H. Meyer*.[1])

(Vergleiche Fig. 6.)

Bei *a* wird das an dieser Stelle ausgezogene Rohr *b* in das übliche Kochkölbchen eingesetzt. *b* dient als Luftkühler und trägt zur Sicherheit eine kugelförmige Erweiterung *c*. In *d*, welches von unten durch einen Korkstopfen verschlossen wird, füllt man nach dem Umkehren des Apparates etwas Wasser und einige Milligramme roten Phosphors ein. Bei *e* taucht das Ableitungsrohr in die alkoholische Silbernitratlösung.

Fig. 6.



Der Apparat ist leicht und billig herstellbar, wenig zerbrechlich und leicht zu reinigen. Die Länge von *b* bis zur Biegung beträgt 50 *cm*, der Durchmesser 10 *mm*, der Inhalt von *d* ist 15 cm^3.

Die indirekte Bestimmung des Lignins.

Man stellt zunächst Lignozellulosen nach dem oben angegebenen Verfahren dar und ermittelt nach einer der besseren Zellulosebestimmungsmethoden den Gehalt des Produktes an Zellulose. Aus der Differenz des Gewichtes des Ausgangsmaterials und der gefundenen Zellulose kann man die Menge des vorhandenen Lignins berechnen.

Bestimmung der Zellulose, des Lignins und des Kutins in den Rohfasern nach *J. König*.[2])

Man stellt die Rohfaser nach dem von *J. König* angegebenen Verfahren dar (siehe dort). Der Rohfaserrückstand in dem *Gooch*schen Tiegel oder auf der Porzellanplatte wird nicht getrocknet, sondern nach dem Absaugen des zuletzt zum Auswaschen verwendeten Äthers und Verdunsten-

[1]) *Hans Meyer*, Über Esterifizierungen mittelst Schwefelsäure. Monatshefte für Chemie. 25. 1201–1214 (1904).

[2]) *J. König*, Bestimmung der Zellulose, des Lignins und des Kutins in der Rohfaser. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 12. 385–395 (1911)

lassen desselben an der Luft nebst dem Asbestfilter verlustlos in ein etwa 800 *cm*³ fassendes Becherglas gebracht und unter Bedecken mit einem Uhrglase oder einer Glasplatte mit 100 oder 150 *cm*³ chemisch reinem. 3-gewichtsprozentigem Wasserstoffsuperoxyd sowie 10 *cm*³ 24%igem Ammoniak versetzt und einige Zeit (etwa 12 Stunden) stehen gelassen. Dann werden 10 *cm*³ 30-gewichtsprozentiges, chemisch reines Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt und dieser Zusatz, wenn die Sauerstoffentwicklung aufgehört hat, noch 2—6mal, d. h. so oft wiederholt, bis die Masse (Rohfaser) völlig weiß geworden ist. Beim dritten und fünften Zusatz von konzentriertem Wasserstoffsuperoxyd fügt man auch noch je 5 *cm*³ (oder 10 *cm*³) des 24%igem Ammoniaks hinzu. Um die Arbeit zu vereinfachen, kann man Wasserstoffsuperoxyd und Ammoniak in graduierten Zylindern mit eingeschliffenen Glasstöpseln vorrätig halten und aus diesen die jedesmal erforderlichen Mengen der Flüssigkeiten zusetzen: denn ein genaues Abmessen der Flüssigkeiten bei dem jedesmaligen Zusatze ist nicht notwendig. Wenn die Substanz völlig weiß geworden ist, erwärmt man etwa 1—2 Stunden auf dem Wasserbade und kann dann, wenn das Wasserstoffsuperoxyd rein war, d. h. mit Ammoniak keinerlei Niederschlag oder Trübung gab, sofort und glatt durch ein zweites Asbestfilter filtrieren.

Der abfiltrierte und ausgewaschene Rückstand wird samt Asbestfilter 2 Stunden mit 75 *cm*³ Kupferoxydammoniak unter öfterem Umrühren, zuletzt kurze Zeit bei ganz geringer Wärme auf dem Wasserbade behandelt und die Flüssigkeit durch einen *Gooch*schen Tiegel mit schwacher Asbestlage filtriert. Wenn von der ersten Rohfaserfiltration ziemlich viel Asbest in der Flüssigkeit vorhanden ist, kann man auch ohne eine zweite Asbestlage ein genügend dichtes Filter dadurch erhalten, daß man die Flüssigkeit umrührt und das erste Filtrat so oft zurückgibt, bis es völlig klar geworden ist. Die letzten Reste der ammoniakalischen Lösung werden unter Zufügung von etwas frischem Kupferoxydammoniak behufs Auswaschens abgesaugt, das Filtrat beiseite gestellt, der Rückstand im Tiegel dagegen unter Anwendung einer neuen Saugflasche genügend mit Wasser nachgewaschen, darauf bei 105—110° getrocknet, gewogen, geglüht und wieder gewogen. Der Glühverlust ergibt die Menge des nicht oxydierbaren, im Kupferoxydammoniak unlöslichen Teiles der Rohfaser, das Kutin.

Das Filtrat von diesem Rückstande, d. h. die Lösung der Zellulose in Kupferoxydammoniak, wird mit 300 *cm*³ 80%igem Alkohol versetzt und damit stark verrührt; hierdurch scheidet sich die gelöste Zellulose in großen Flocken quantitativ wieder aus. Sie wird im Porzellan-*Gooch*tiegel gesammelt, zuerst mit warmer verdünnter Schwefelsäure, dann genügend mit Wasser, zuletzt mit Alkohol und Äther ausgewaschen, bei 105—110° getrocknet, gewogen und verascht. Der Gewichtsunterschied zwischen dem Gewicht des Tiegelinhaltes vor und nach dem Glühen ergibt die Reinzellulose.

Der Unterschied von Gesamtrohfaser (Zellulose + Kutin) ergibt die Menge des oxydierbaren Anteiles der Rohfaser, das sog. Lignin.

Obschon diese Methode keine quantitative Trennung der erwähnten Körper gestattet, so ist sie doch fähig, bei vergleichenden Untersuchungen brauchbare Resultate zu geben.

Darstellung, Nachweis und Bestimmung der wichtigen stickstoffhaltigen Kohlenhydrate.

Chitin.

Darstellung des Chitins aus Krustazeenpanzer nach *Offer*.[1])

Hummerschalen werden von den sichtbar anhaftenden Fleischresten mechanisch gereinigt und in verdünnte Salzsäure für mehrere Tage eingelegt. Die Salzsäure wird immer wieder erneuert, so lange sich noch Aufbrausen zeigt. Hierauf werden die nun weich gewordenen Schalen in strömendes Wasser gegeben, um allen anhaftenden Gips zu entfernen. Dieses Reinigungsverfahren in fließendem Wasser dauert einige Tage, dann werden die Schalen mit verdünnter 10%iger Kalilauge, welche öfters gewechselt wird, ausgekocht. Die Kalilauge wird durch wiederholtes Auswässern möglichst entfernt und die nun fast farblosen eiweißfreien Schalen ausgepreßt und neuerdings in verdünnte Salzsäure eingelegt. Um den letzten Rest des Farbstoffes zu entfernen, werden die Schalen mit verdünnter Permanganatlösung behandelt, dann mit einer verdünnten Lösung von Natriumbisulfit manganfrei gewaschen, dann ausgepreßt und mit destilliertem Wasser unter häufigem Wechseln desselben so lange gewaschen, bis eine Probe abgedampft keinen Rückstand mehr hinterläßt. Die so gereinigten Hummerschalen sind blendend weiß und geben keine Eiweißreaktionen. Ihr Aschegehalt beträgt nur 0·3%.

Darstellung von Chitin aus Pilzen.

Als Beispiel soll die Verarbeitung von Boletus edulis nach *Scholl*[2]) dienen. Man kocht die fein gepulverten Hüte und Strünke des Pilzes so oft mit der 20fachen Menge Wassers aus, bis das Filtrat nahezu farblos abläuft, kocht dann den Rückstand etwa 1 Stunde mit der 10fachen Menge 10%iger Kalilauge, dann den abgepreßten Rückstand so lange mit Wasser, bis das Filtrat nicht mehr gefärbt abläuft, und wiederholt das abwechselnde Kochen mit Lauge und Wasser etwa 4mal. Die gelblichgraue plastische, mit Wasser aufquellende Masse wird dann mit einer 1%igen Lösung von Kaliumpermanganat stehen gelassen, dann der filtrierte Rückstand mit sehr verdünnter Salzsäure (1:40) erwärmt und mit Wasser, dann mit Alkohol und Äther gewaschen.

---

[1]) *Th. R. Offer*, Über Chitin. Biochem. Zeitschr. **7**. 117—127 (1908).

[2]) *Emil Scholl*, Die Reindarstellung des Chitins aus Boletus edulis. Monatshefte f. Chemie. **29**. 1023—1036 (1908).

Polarimetrischer Nachweis des Chitins nach *Irvine*.[1])

Löst man 1·75 *g* Chitin in 100 *cm*³ Salzsäure der Dichte 1·160, so zeigen Chitinpräparate verschiedener Herkunft ein ziemlich konstantes Drehungsvermögen, wie das aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich ist:

Herkunft des Chitin	Anfangsdrehung $[\alpha]_D^{20}$	
Schalen von Homarus	—14·7°	—13·9°
„ „ Cancer pagurus	—13·6°	
„ „ Limulus	—13·9°	
„ „ Lithodes maia	—13·5°	
Chitin aus Crangon vulgaris	—14·6°	
„ „ Blatta	—13·9°	
Knochen von Loligo	—14·1°	
„ „ Flustra foliacea	—14·0°	

Der Durchschnittswert von $[\alpha]_D^{20°} = -14·1°$ kann demnach als Anfangsdrehung für Chitin angenommen werden. Lösungen höherer Konzentration sind nicht zu empfehlen, da das Auflösen des Chitins dann längere Zeit beansprucht und das Drehungsvermögen mit der Zeit ändert, wie dies folgende Zahlen beweisen:

Drehung $[\alpha]_D^{20°}$ nach	0	24	72	720 Stunden
Chitin aus Cancer	—13·6°	—3·1°	+3·1°	+32·6°
„ „ Blatta	—13·9°	—3·0°	+4·0°	+34·1°
„ „ Homarus	—14·7°	—3·4°	+4·0°	+32·7°

Bei 40—45° tritt schon nach 8—10 Stunden eine vollständige Hydrolyse der Chitinpräparate ohne Bildung von gefärbten Substanzen ein, wobei das Drehungsvermögen den Durchschnittswert von $[\alpha]_D = +56°$ erreicht.

Wird 15 *cm*³ der so erhaltenen Lösungen von Glukosaminchlorhydrat mit 10 *cm*³ einer 5%igen Kaliumnitritlösung versetzt, so erhält man Chitoselösungen, die auf 30 *cm*³ verdünnt folgende Zahlen geben.

Herkunft des Chitins	$[\alpha]_D^{20}$ nach der Hydrolyse	$[\alpha]_D^{20}$ nach der Behandlung mit salpetriger Säure
Carcinus	+56·3°	+22·7°
Homarus	+55·6°	+22·6°
Limulus	+55·6°	+28·8°
Blatta	+55·9°	+27·4°
Lithodes	+56·0°	+25·5°

Auf Grund dieser Beobachtungen läßt sich der Nachweis des Chitins auch mit kleinen Mengen von 0·1 *g* durchbringen, indem man das Chitin

---

[1]) *James Colquhoun-Irvine,* A polarimetric method of identifying Chitin. Journal of the chemical Society. **95/96**. 464—570 (1909).

in Salzsäure löst, die Drehung vor und nach der Hydrolyse ermittelt und endlich das Drehungsvermögen der mit salpetriger Säure behandelten Lösung bestimmt. War Chitin vorhanden, so verhalten sich die abgelesenen Drehungswinkeln α_1, α_2 und α_3 annähernd wie

$$-1 : +4 : +{}^3/_2.$$

Mikrochemischer Nachweis von Chitin nach *Wisselingh.*[1])

Man erhitzt die Probe mit Kalilauge im geschlossenen Rohr auf 180°, wäscht dann mit 90%igem Alkohol aus und setzt sehr verdünnte Schwefelsäure und Jodjodkalium zu, worauf Rotviolettfärbung eintritt, welche durch das aus dem Chitin entstandene Chilosan bedingt wird.

Charakteristische Eigenschaften des Chitins.

Chitin ist unlöslich in Wasser und in organischen Lösungsmitteln, außerdem in konzentrierten Alkalien und in Kupferoxydammoniak. Löst sich in konzentrierter Schwefelsäure und Salzsäure unter Braunfärbung, wobei schon bei gewöhnlicher Temperatur eine langsame Hydrolyse stattfindet. Verdünnte Säuren greifen das Chitin langsam, aber nicht unbeträchtlich an. Kochende Salzsäure führt das Chitin rasch durch Hydrolyse in Glukosaminchlorhydrat über, wobei gleichzeitig auch Essigsäure frei wird. Bei der Kalischmelze wird Chitin in Chitosan überführt (siehe dort), ebenfalls unter Bildung von Essigsäure. Alkoholische Laugen greifen das Chitin langsam, aber merklich an. Mit Jodlösung nimmt Chitin eine bräunliche Farbe auf, die beim Waschen mit Wasser leicht verblaßt und gänzlich verschwindet. Auf Zusatz von Schwefelsäure geht die Farbe ins Rötliche, zuweilen ins Violette über. Gegenwart von Kochsalz verstärkt die Reaktion. Chlorzinkjod erzeugt eine violette Färbung; dabei muß der Jodgehalt der Lösung möglichst gering sein und nach der Behandlung muß mit Wasser gespült werden. Es sind Fälle bekannt, wo die violette Färbung ausbleibt, obschon durch die Bildung von Glukosaminchlorhydrat und durch die Löslichkeit die Gegenwart von Chitin bewiesen war. Nach *Zander*[2]) färben sich die homogenen Schichten stets nur gelb bis braun, während die Schichten mit zellähnlicher Struktur einen deutlichen Umschlag ins Violette erleiden. Um schärfere Resultate zu erzielen, ist es zweckmäßig, eine konzentrierte Zinkchloridlösung und eine konzentrierte frisch bereitete Jodlösung in Jodkalium getrennt zu den mikrochemischen Reaktionen anzuwenden. Methyl- und Gentianaviolett färben rosarot. Die Reaktion mit Thymol nach *Molisch* erzeugt Rotfärbung.

---

[1]) *C. van Wisselingh,* Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. **31**. 619—687 (1898).

[2]) *A. Enoch Zander,* Vergleichende und kritische Untersuchungen zum Verständnisse der Jodreaktion des Chitins. *Pflügers* Archiv. **66**. 545—573 (1897).

Darstellung von Chitosan.[1]

Man mengt 40—50 *g* zerkleinerten Chitins mit der 4fachen Menge pulverisierten Ätzkalis in einer großen Silberschale und erhitzt das Gemenge im Ölbade, bis dieses eine Temperatur von 170—180° erreicht hat. Unter fortwährendem Umrühren des Reaktionsgemisches wird das Ölbad $^1/_2$ Stunde bei dieser Temperatur erhalten. Die erkaltete Schmelze wird wiederholt unter Rückflußkühlung mit 95%igem Alkohol ausgekocht, um das Kali in Lösung zu bringen. Das freie Chitosan, das noch vollkommen die Struktur des Chitins zeigt, wird abgenutscht, mit Wasser und Alkohol gewaschen und in verdünnter Essigsäure in der Kälte gelöst. Die filtrierte Lösung wird nun mit verdünnter Kalilauge schwach alkalisch gemacht, der gallertartige Niederschlag auf einem gehärteten Filter abfiltriert und gründlich gewaschen.

Darstellung von kristallinischen Chitosansalzen.

Überführung des Chitosans in das kristallinische Chlorhydrat.[2]

Man suspendiert die farblosen, gequollenen Chitosanstücke in einer möglichst geringen Menge heißen Wassers und setzt allmählich verdünnte Salzsäure zu. Dabei geht das Chitosan als Chlorhydrat in Lösung. Nach dem Erkalten der konzentrierten Lösung wird dieselbe mit reiner konzentrierter Salzsäure, nötigenfalls unter Zusatz von Alkohol versetzt, wobei das in Wasser leicht lösliche, in konzentrierter Salzsäure aber nur sehr schwer lösliche Chitosanchlorhydrat in Form einer voluminösen Masse ausfällt. Der Zusatz der Salzsäure wird derart bemessen, daß ein Mehrzusatz im Filtrat keine weitere Fällung bewirkt; ein allzu großer Überschuß von Salzsäure muß aber vermieden werden. Das amorphe Chlorhydrat wird auf einem Saugfilter gesammelt, sodann in möglichst wenig heißem Wasser gelöst und die Lösung in einem Rundkolben allmählich mit gerade so viel konzentrierter Salzsäure versetzt, daß eine abgegossene Probe in der Siedehitze vollständig klar erscheint, beim Erkalten aber eine reichliche Fällung gibt. Nunmehr wird die durch den Salzsäurezusatz bewirkte voluminöse Fällung durch Aufkochen gelöst und die Flüssigkeit äußerst langsam erkalten gelassen. Es wird dies am besten in der Weise erzielt, daß der die siedend heiße Lösung enthaltende Kolben in ein sehr großes Blechgefäß mit heißem Wasser eingetaucht und in dem letzteren erkalten gelassen wird. Durch dieses Vorgehen gelingt es in der Regel, eine Abscheidung in charakteristischen Kristallformen zu erzielen. Das Präparat wird auf einem

[1]) *Emil Löwy*, Über kristallinisches Chitosansulfat. Biochem. Zeitschr. **23**. 47 bis 60 (1910).

[2]) *Otto v. Fürth* und *Michele Russo*, Über kristallinische Chitosanverbindungen aus Sepienschulpen. Ein Beitrag zur Kenntnis des Chitins. *Hofmeisters* Beiträge zur chem. Phys. u. Path. 8. 163—190 (1906).

gehärteten Saugfilter gesammelt und eventuell noch mehrmals in der beschriebenen Art umkristallisiert.

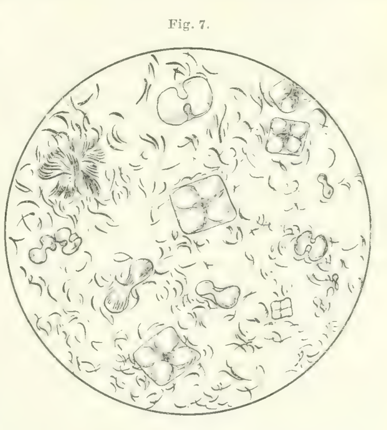
Schließlich wird das Kristallpulver abgesaugt, erst mit 95%igem Alkohol, dann mit absolutem Alkohol chlorfrei gewaschen, zum Zwecke der Beseitigung der letzten Wasserreste einen oder mehrere Tage unter absolutem Alkohol stehen gelassen, der Alkohol durch trockenen Äther verdrängt und schließlich unter vermindertem Druck über Schwefelsäure und Paraffin getrocknet.

Nach demselben Verfahren läßt sich das Sulfat und das Phosphat kristallinisch erhalten.[1])

Das Chitosanchlorhydrat bildet eigentümliche Biskuitformen (siehe Fig. 7), zuweilen quadratische Aggregate mit einer tiefen Delle. Die Kriställchen sind tetragonal oder besser pseudotetragonal. Oft werden auch feine gekrümmte Nädelchen beobachtet. Eine 1%ige wässerige Lösung zeigt die Drehung

$$[\alpha]_D = -17^0.$$

Fig. 7.



Das Chitosansulfat, $C_{28}H_{50}N_4O_{19}(H_2SO_4)_3$, zeigt dieselbe Kristallform wie das Chlorhydrat. Das reine Salz ist in Wasser unlöslich.

Charakteristische Eigenschaften des Chitosans.

Das Chitosan ist in Wasser absolut unlöslich, dagegen leicht löslich in verdünnter Salzsäure, in Essigsäure und in organischen Säuren, schwer löslich in verdünnter und konzentrierter Schwefelsäure, in konzentrierter Salpetersäure und konzentrierter Salzsäure. Schon 1%ige Schwefelsäure fällt Chitosan aus den Lösungen aus. Die sauren Lösungen scheiden durch konzentrierte Säuren und mit Alkalien das Chitosan vollständig aus. Das Chitosan ist eine gelbliche amorphe Masse. In verdünnter Essigsäure gelöst (1·338 *g* in 100 *cm*³ Lösung) zeigt es das Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -17.92^0$. Die konzentrierten Lösungen geben mit den Salzen der alkalischen Erden und der Schwermetalle voluminöse gallertartige Niederschläge. Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumjodomercurat, Wismutkaliumjodid fällen auch stark verdünnte Lösungen, während Pikrinsäure und Tannin nur in den konzentrierten Lösungen Niederschläge erzeugen. Gibt bei der Hydrolyse mit konzentrierter Salzsäure Glukosamin

---

[1]) *Emil Löwy*, Über kristallinisches Chitosansulfat. Biochem. Zeitschr. 23. 47—60 (1910).

und Essigsäure. Beim Schütteln mit Benzoyl-, Benzolsulfo- und Naphthalinsulfochlorid in Gegenwart von Alkali erhält man körnige, sehr schwer lösliche Additionsprodukte. Färbt sich mit verdünnter Jodlösung intensiv violett und die Farbe verschwindet auch bei anhaltendem Waschen mit Wasser nicht. Chitosan entfärbt eine schwach gefärbte Jodstärkelösung. Kongorot färbt das Chitosan intensiv rot.

Glukosamin.

Darstellung von Glukosaminchlorhydrat[1]) und des freien Glukosamins.[2])

Panzer und Scheren von Hummer, die mechanisch möglichst gereinigt sind, werden 24 Stunden mit kalter verdünnter Salzsäure mazeriert. Sie lassen sich dann leicht zerschneiden und von noch anhaftenden Fasern und Fleischteilen befreien. 100 *g* des so vorbereiteten Materials werden in einer Porzellanschale mit rauchender Salzsäure übergossen und endweder auf einem Sandbade oder auf einem Baboblech bis zum gelinden Sieden erwärmt. Das Chitin geht dann rasch in Lösung und die Flüssigkeit färbt sich dunkel. Man verdampft so lange, bis eine reichliche Kristallisation von salzsaurem Glukosamin erfolgt ist, läßt erkalten und filtriert auf der Nutsche entweder auf ein Leinwandfilter oder einem gehärteten Papierfilter und wäscht mit wenig kalter Salzsäure nach. Die Mutterlauge gibt beim weiteren Eindampfen eine neue Kristallisation. Zur Reinigung wird das Salz in warmem Wasser gelöst und die Flüssigkeit bis zur beginnenden Kristallisation eingedampft. Die letzte Reinigung geschieht durch Umkristallisieren aus heißem 80%igem Alkohol.

Zur Darstellung des kristallisierten freien Glykosamins zersetzt man das salzsaure Salz mit Diäthylamin. Um die Reaktion zu erleichtern, muß das salzsaure Salz sehr fein verteilt sein. Zu dem Zwecke löst man es in wenig heißem Wasser und rührt die konzentrierte Lösung in die 10- bis 15fache Menge kalten, absoluten Alkohols; es folgt dann die Ausscheidung in Form feiner Kristallflitter.

5 *g* in dieser Weise dargestellten trockenen Chlorhydrats werden mit ca. 60 cm^3 absolutem Alkohol übergossen, 2·5 *g* Diäthylamin zugefügt und nun in verschlossener Flasche bei Zimmertemperatur 24 Stunden geschüttelt. Jetzt wird die Flüssigkeit vom Niederschlag durch Absaugen getrennt, der letztere nochmals in Alkohol suspendiert, neuerdings mit wenig Diäthylamin und einigen Kubikzentimeter Chloroform weitere 17 Stunden geschüttelt. Dann wird wieder abgesaugt und der blendend weiße, pulverige Niederschlag mit Alkohol, Chloroform und zuletzt mit Alkoholäther gründlich gewaschen. Erweist sich dann die Substanz noch nicht vollkommen chlorfrei, so wird die geschilderte Behandlung noch ein drittesmal wiederholt.

---

[1]) *Emil Fischer,* Anleitung zur Darstellung organischer Präparate.

[2]) *Robert Breuer,* Über das freie Chitosamin. Ber. d. Deutschen chem. Ges. **31.** 2193—2200 (1898).

Man erhält so die Base in Form eines äußerst feinen, lockeren, aus feinsten Nadeln bestehenden Pulvers, welches bei der Analyse ohne weiteres befriedigende Zahlen liefert. Die Ausbeute beträgt ca. 90% der theoretisch berechneten Menge. Zur weiteren Reinigung kann man das Präparat, allerdings mit großen Verlusten, aus Methylalkohol umkristallisieren, wobei man es in Gestalt von schönen, bis $1^1/_2$ *mm* langen, farblosen Nädelchen erhält.

Vollkommen trocken (über Schwefelsäure) aufbewahrt, hält sich das Präparat monatelang unverändert. Aber schon in verschlossenen Gläsern gehalten, färbt es sich nach kurzer Zeit gelblich und ist nach mehreren Wochen zu einer intensiv braun gefärbten, krümeligen Masse umgewandelt. Noch schneller vollzieht sich diese Veränderung beim freien Liegen an der Luft.

Eigenschaften des Glukosamins. Farblose, bis $1^1/_2$ *mm* lange Nädelchen aus Methylalkohol. Beim Erwärmen bräunt es sich bei 105° und schmilzt bei 110° unter Braunfärbung und Zersetzung. Sehr leicht löslich in Wasser zu einer alkalischen Flüssigkeit, schwer löslich in kaltem, löslich in 38 Teilen heißem Methylalkohol, schwer löslich in kaltem und heißem Alkohol, unlöslich in Äther. $[\alpha]_D = +47{\cdot}08^0$ bis $48{\cdot}64^0$ (0·2508 *g* in 25 cm^3 Wasser, bzw. 0·7455 *g* in 20 cm^3 Wasser). In feuchter Luft sehr zersetzlich, in trockner ziemlich beständig. In wässeriger Lösung, besonders beim Erwärmen, erfolgt Ammoniakabspaltung. Die gewöhnlichen Farbenreaktionen der Aldo- und Ketohexosen sowie der Pentosen gelingen mit Glukosamin nicht.

Nachweis des Glukosamins durch Überführung in Norisozuckersäure nach *Neuberg* und *Wolff*.[1])

Die Grundlage des Verfahrens beruht auf der Beobachtung von *Emil Fischer* und *Tiemann*[2]), daß bei der Oxydation von Glukosamin, Chitin bzw. bei der Oxydation von Derivaten, die aus den beiden gewonnen werden, Norisozuckersäure entsteht. Die Isolierung von Norisosaccharaten ist deshalb für das Glukosamin durchaus beweisend. Die Darstellung der Säure gelingt auch bei Gegenwart von anderen Spaltungsprodukten der Proteinstoffe, von denen sie leicht als Bleisalz trennbar ist. Die aus letzterem mit Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzte Säure bildet mit Zinchonin oder Chinin Salze, die ein selten schönes Kristallisationsvermögen besitzen.

---

[1]) *C. Neuberg* und *H. Wolff*, Über den Nachweis von Chitosamin. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. 34. 3840—3846 (1902).

[2]) *Ferd. Tiemann*, Einiges über den Abbau von salzsaurem Glukosamin. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. 17. 241—551 (1884); Über Isozuckersäure. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. 27. 118—138 (1894); *Emil Fischer* und *Ferd. Tiemann*, Über das Glukosamin. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. 27. 138—147 (1894).

Die Methode gewährt noch einen weiteren Vorteil. Unter den Spaltungsprodukten der Proteine begegnet man gepaarte Derivate des Glukosamins (z. B. mit Glukuronsäure), außerdem muß man eventuell mit dem Vorhandensein einer Aminogalaktose ebenfalls rechnen. Bei der Oxydation mit Salpetersäure geben die beiden letztgenannten Körper Zuckersäure bzw. Schleimsäure. Diese drei Säuren sind nun leicht nebeneinander nachzuweisen. Zuckersäure und Schleimsäure geben mit Phenylhydrazin die bekannten schwerlöslichen Doppelhydrazide, während das Norisozuckersäurephenylhydrazid wegen seiner großen Löslichkeit in den Mutterlaugen bleibt. Die Alkaloidsalze der Zuckersäure sind sehr viel leichter löslich als die entsprechenden Norisosaccharate. Schleimsäure unterscheidet sich außer durch ihr optisches Verhalten durch ihre Schwerlöslichkeit von den beiden anderen Dikarbonsäuren.

Zur Charakterisierung und Abscheidung der Norisozuckersäure dienen folgende Alkaloidsalze.

Norisozuckersaures Zinchonin.

Man erwärmt die wässerige Lösung der zu untersuchenden Zuckersäuren mit Zinchonin, bis zur deutlich alkalischen Reaktion, filtriert nach dem Abkühlen und schüttelt die geringen, in Lösung gegangenen Mengen von freiem Alkaloid mit Essigäther aus. Dann verdampft man auf dem Wasserbade, wobei meistens schon in der Hitze die Kristallisation des Zinchoninsalzes beginnt; in der Kälte erstarrt die Masse zu einem Haufwerk feiner Nadeln. Bei langsamer Abscheidung erhält man zentimeterlange, derbe Prismen, bei schneller Abkühlung biegsame Nädelchen in fast quantitativer Ausbeute. Die Substanz schmilzt bei 207°, nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser bei 208°. Sie ist löslich in heißem Wasser, wenig löslich in kaltem, etwas löslich in heißem Alkohol, unlöslich in Azeton, Chloroform, Essigester und Benzol. Das Salz ist einheitlich, mag man von reiner Norisozuckersäure oder deren Gemisch mit Isozuckersäure ausgehen; lufttrocken scheint es 2 Moleküle Kristallwasser zu enthalten, die langsam über konzentrierter Schwefelsäure entweichen. Die Zusammensetzung entspricht der Formel: $C_6H_{10}O_8(C_{19}H_{22}N_2O)_2$ entsprechend 66·17% C, 6·77% H und 7·02% N. $[\alpha]_D = +175^{0}$ ($c = 1; d = +1^{0}45'$).

Norisozuckersaures Chinin.

Entsteht ebenso wie das Zinchoninsalz, dem es in Aussehen und Löslichkeitsverhältnisse sehr ähnlich ist. Schmelzpunkt 207°. Zusammensetzung $C_6H_{10}O_8(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2$ entsprechend 6·53% N. $[\alpha]_D = -125^{0}$ ($c = 1; d = -1^{0}15'$).

Norisozuckersaures Bruzin.

Erhält man auf dieselbe Weise wie das Zinchoninsalz. Da es etwas leichter löslich ist, verdampft man die Lösung auf dem Wasserbade zum

dünnen Sirup, der nach dem Erkalten langsam von selbst, fast augenblicklich beim Reiben erstarrt. Nach dem Umkristallisieren aus Alkohol von 30% erhält man farblose feine Nädelchen, die, bei 100° getrocknet, den Schmelzpunkt 199° haben. Zusammensetzung $C_6 H_{10} O_8 (C_{23} H_{26} N_2 O_4)_2$. Stickstoffgehalt 5·61%.

* * *

Zur Ausführung des Verfahrens soll als Beispiel der von *Neuberg* und *F. Heymann*[1]) durchgeführte Nachweis des Glukosamins im Pseudomuzinmoleküle beschrieben werden.

20 *g* Pseudomuzin werden in der Kälte mit 25 *cm*³ rauchender Bromwasserstoffsäure vom spez. Gew. 1·49 übergossen, in der sie sich schnell lösen. Man verdünnt die Flüssigkeit alsdann mit 80 *cm*³ Wasser und erhitzt am Rückflußkühler auf einem Baboblech zu schwachem Sieden.

Bei etwa zweieinhalbstündigem Erwärmen erzielt man unter diesen Bedingungen ein Optimum in der spaltenden Wirkung der Mineralsäure. Die braungefärbte Flüssigkeit wird zunächst mit Knochenkohle entfärbt und zeigt dann ein maximales Reduktionsvermögen von etwa 30%. Dieser Gehalt an reduzierender Substanz ist so groß, daß sich die Flüssigkeit, entgegen den Erfahrungen bei anderen Glykoproteiden, ohne Entfernung der übrigen Eiweißspaltprodukte direkt titrieren läßt.

Für die Weiterverarbeitung empfiehlt sich die Entfernung der überschüssigen Bromwasserstoffsäure, doch hat man dafür Sorge zu tragen, daß der etwa an ein amidiertes Kohlenhydrat gebundene Anteil diesem nicht entzogen wird, da die freien Aminozucker außerordentlich zur Zersetzung neigen. Um diese Forderungen zu erfüllen, ermittelt man am einfachsten in einer Probe den Gehalt an freier Bromwasserstoffsäure durch Titration und trägt vier Fünftel der daraus berechneten theoretisch erforderlichen Mengen reinen Bleikarbonats in kleinen Portionen ein. Bei kräftigem Zerreiben in einer Porzellanschale sieht man alsdann an Stelle des Karbonats Kristalle von Bromblei treten; von diesem saugt man nach zweistündigem Stehen ab und engt das Filtrat bei niederer Temperatur zum Sirup ein. Derselbe wird dann mit 100 *cm*³ Alkohol von 96% ausgekocht, der Rückstand wird wieder in wenig Wasser gelöst, wieder mit heißem Alkohol ausgezogen und der gleichen Behandlung so oft (drei- bis viermal) unterworfen, als der Alkohol noch reduzierende Substanz aufnimmt. Dabei geht das Glukosaminbromhydrat in Lösung.

Die vereinigten Alkoholextrakte scheiden beim Stehen in der Kälte einen zum größten Teil aus anorganischen Salzen bestehenden Niederschlag und an den Gefäßwandungen einen klebrigen Sirup aus. Bei gelindem Erwärmen löst sich der letztere wieder auf, der erstere bleibt ungelöst. Von diesem Niederschlage wird der alkoholische Extrakt abfiltriert

---

[1]) *Carl Neuberg* und *Felix Heymann*, Zur Kenntnis des Pseudomuzins. *Hofmeisters* Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie. 2. 201—213 (1902).

und zur Verjagung des Alkohols auf dem Wasserbad bis zum dicken Sirup eingeengt.

Die zur Oxydation nötige Menge Salpetersäure wird aus dem Resultat der Titration bemessen unter der Annahme, daß alle reduzierende Substanz als Glukosamin vorhanden ist. Dementsprechend werden auf die oben angegebene Menge des Ausgangsmaterials zunächst 20 cm^3 Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1·2 zugesetzt, darauf wird auf dem Wasserbade bis zum Sirup eingedampft; dann werden 12 cm^3 derselben Salpetersäure hinzugefügt, es wird wieder bis zum dicken Sirup eingedampft und zur Vertreibung überschüssiger Salpetersäure nach Zusatz von 20 cm^3 Wasser noch einmal bis zu der gleichen Konsistenz eingeengt.

Der Sirup wird in 80 cm^3 heißem Wasser gelöst, die Lösung zur Entfernung des Bromwasserstoffs unter Erhitzen mit Silbernitrat versetzt und filtriert.

Beim Neutralisieren mit Ammoniak bleibt das Filtrat klar. Beim Ansäuern mit Essigsäure entsteht ein hellgelber Niederschlag, von dem abfiltriert wird. Um etwa vorhandene Oxalsäure zu entfernen, werden einige Tropfen Kalziumazetatlösung zugesetzt, doch ist in dem beschriebenen Falle keine Bildung von Oxalsäure eingetreten.

Um die in der Flüssigkeit verwendete Norisozuckersäure von den übrigen Spaltungsprodukten zu trennen, wird eine Lösung von normalem Bleiazetat zugesetzt. Das ausfallende Bleisalz ist durch mitgerissenes Silberoxyd braun gefärbt und setzt sich gut ab. Der Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit kaltem Wasser abgewaschen.

Die Bleifällung wird mit Wasser angerieben und mit Schwefelwasserstoff anfangs in der Kälte, zum Schluß in der Siedehitze zerlegt. Als Filtrat der Schwefelmetalle resultiert eine kaum gefärbte Flüssigkeit, die zur Entfernung des gelösten Schwefelwasserstoffs aufgekocht wird.

Die Flüssigkeit wird nunmehr in der Siedehitze mit kleinen Mengen Cinchonin bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt und weiter behandelt, wie oben bei der Darstellung des Zinchoninsalzes beschrieben wurde.

Nachweis des Glukosamins als Chlorhydrat.

Enthält das zu untersuchende Produkt viel Glukosamin in gebundener Form, so gelingt meistens die Abscheidung desselben in Form seines Chlorhydrates nach der Hydrolyse mit Salzsäure. Allerdings muß die richtige Konzentration der anzuwendenden Salzsäure durch besondere Vorversuche festgestellt werden. Zuweilen gelingt leichter die Abscheidung des kristallisierten Glukosaminchlorhydrats, wenn man das Reaktionsgemisch nach *Schotten-Baumann* in Gegenwart von Natronlauge benzoyliert und die erhaltene Benzoylverbindungen mit Salzsäure hydrolysiert.[1])

---

[1]) *E. Baumann*, Über eine einfache Methode der Darstellung von Benzoesäureestern. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **19**. 3218 (1886). — *Friedrich Müller*, Bei-

Die Benzoylierung gelingt aber nicht immer leicht und führt zu Gemischen von amorphen niederen Estern mit relativ wenig Tetrabenzoyl- und Pentabenzoylglukosamin, die kristallisiert sind. Zur Regenerierung des Glukosaminchlorhydrates sind größere Materialmengen erforderlich. Überdies wird die Ausbeute bei der Benzoylierung durch die große Empfindlichkeit des Glukosamins gegen wässerige Alkalien beeinträchtigt, so daß die Methode in einzelnen Fällen der nötigen Sicherheit ermangelt.[1])

Glukosaminchlorhydrat, $C_6H_{11}(NH_2)O_5$.HCl. Mol.-Gewicht 215·58. Zusammensetzung 33·40% C; 6·54% H; 6·50% N; 16·45% Cl. Bildet glänzende, monokline Kristalle, die eine deutliche Meminorphie nach der Symmetrieachse zeigen. Die Lösung zeigt sofort nach dem Auflösen $[\alpha]_D^{20} =$ $= +100^0$ und bei längerem Stehen $+72·5^0$. Werden diese Kristalle (α-Form) in 2 Teilen Wasser von 60° gelöst und in 10 Teilen Alkohol eingegossen, so erhält man hexagonale Nädelchen (β-Form), die nach dem Auflösen sofort ein Drehungsvermögen von $[\alpha]_D^{20} = +72·5^0$ zeigen.[2]) Sehr leicht löslich in Wasser, sehr schwer in Alkohol, unlöslich in Äther. Schmeckt deutlich süß mit einem bitteren, salzartigen Nachgeschmack. Gibt mit 2 Teilen Phenylhydrazinchlorhydrat und 3 Teilen Natriumazetat im Wasserbade erhitzt Phenylglukosazon, jedoch viel langsamer, als eine Glukoselösung (3 Stunden).

Nachweis des Glukosamins als Phenylisocyanatverbindung.[3])

Man schüttelt die fragliche, nach der Hydrolyse mit Salzsäure gewonnene, neutralisierte Reaktionsflüssigkeit unter starker Kühlung mit Phenylisocyanat, das man in kleinen Portionen zusetzt und sorgt dafür, daß die Reaktion der Flüssigkeit während der ganzen Operation schwach alkalisch bleibt. Man verbraucht soviel Phenylisocyanat, daß auch nach längerem Stehen der Geruch desselben wahrnehmbar ist. Eine vorherige Bestimmung des Reduktionsvermögens der Reaktionsflüssigkeit erlaubt die annähernde Ausrechnung der nötigen Phenylisocyanatmenge. Man nimmt dann auf 2·25 *g* Glukosaminchlorhydrat 1·19 *g* Phenylisocyanat. Beim Stehen in der Kälte scheidet sich eine gallertartige Masse, die abgesaugt und mit Wasser gewaschen wird. Sie ist die Phenylcyanatverbindung des Glukosamins und wird durch etwa einstündiges Erwärmen mit 20%iger

träge zur Kenntnis des Muzins und einiger damit verwandter Eiweißstoffe. Zeitschr. f. Biolog. **42**. (Jubelband für *Voit*.) 468—564 (1899).

[1]) *Carl Neuberg* und *H. Wolff*, Über den Nachweis von Chitosamin. Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. **34**. 3890 (1901).

[2]) *C. Tanret*, Über das Chlorhydrat des Glukosamins. Bulletin de la société chimique de Paris [3]. **17**. 802—805 (1897).

[3]) *H. Steudel*, Über den Nachweis von Amidozuckern. I. Mitteilung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. **33**. 223—224 (1901). Eine neue Methode zum Nachweis von Glukosamin und ihre Anwendung auf die Spaltungsprodukte der Muzine. Zeitschr. f. physiol. Chemie. **34**. 353—384 (1901/1902).

Essigsäure auf dem Wasserbade in das gut kristallisierende Anhydrid überführt.

```
                  NH . C6 H5
                   |
   —H              CO
  C=O              |
   |               |
H—C————————————————NH
   |
OH—C—H
   |
H—C—OH
   |
H—C—OH
   |
  CH2 . OH
```

Glukosaminphenylisocyanat

→

```
         N — C6 H5
        / \
      CH   C(OH)
      ||   ||
   H—C—————N
      |
  OH—C—H
      |
   H—C—OH
      |
   H—C—OH
      |
     CH2 . OH
```

Glukosaminphenylisocyanatanhydrid, α-Tetraoxybutyl-γ-phenyl-μ-hydroxy-imidazol.

Das Anhydrid fällt aus der essigsauren Lösung in schweren großen Kristallen aus, zeigt nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heißem Alkohol den Schmelzpunkt 210° (unkorrigiert), nachdem schon bei 200° Bräunung eingetreten ist. 1 Teil löst sich bei gewöhnlicher Temperatur in 156 Teilen Wasser. Die Löslichkeit in Alkohol ist noch geringer. Leicht löslich in heißem Wasser und in heißem Alkohol, unlöslich in Äther. Das Drehungsvermögen beträgt $[\alpha]_D^{20} = +76{\cdot}9^\circ$ ($p = 0{\cdot}6498$).

Die Verbindung kann man leicht auch in Gegenwart von Aminosäuren abscheiden. Die Additionsprodukte der Aminosäuren sind nämlich in alkalischer Lösung leicht löslich und fallen erst beim Ansäuern aus, während man das Glukosaminphenylcyanat vorher bei alkalischer Reaktion leicht abfiltrieren kann.

Die physikalisch-chemische Analyse der Pflanzenzelle.

(Bestimmung der Oberflächenspannung, Permeabilität, des osmotischen Druckes durch Plasmolyse.)

Von **Viktor Grafe**, Wien.

Durch eine Reihe neuerer Untersuchungen, die sich, von *De Vries* ausgehend, namentlich an die Namen *Czapek, Lepeschkin, Ruhland, van Rysselberghe, Tröndle* knüpfen, ist die große Bedeutung der Plasmaoberfläche für die Endosmose und Exosmose der Zelle in das rechte Licht gerückt worden, so daß heute beim Studium der Lebenserscheinungen die Beachtung der physikalisch-chemischen Momente des Zellebens ausschlaggebend werden dürfte.[1])

Von *F. Czapek* wurde eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen[2]) ausgearbeitet, welche in der Feststellung der Grenzkonzentration von Lösungen oberflächenaktiver Stoffe von bekannter Oberflächenspannung, z. B. Äthylalkohol, besteht, welche eben imstande ist, aus Pflanzenzellen die Exosmose von leicht nachweisbaren Stoffen des Zellinhaltes zu erregen. Der Apparat, welcher hier für die Bestimmung der Oberflächenspannung verschiedener Substanzen zweckmäßig benützt wird, beruht auf dem Prinzip, nach welchem die Oberflächenspannung durch die Druckhöhe einer Flüssigkeitssäule gemessen werden kann, durch welche eben eine Luftblase durch die zu prüfende Lösung hindurchgepreßt werden kann. Eine auf diesem Prinzip basierende Bestimmungsmethode, welche alle anderen an Genauigkeit übertrifft, rührt von *Whatmough*[3]) her, dessen Apparat aus diesem Grunde hier beschrieben werden soll:

Er besteht im wesentlichen aus drei Teilen, (die schematischen Zeichnungen sind der Originalarbeit entnommen)[4]) dem Druckreservoir, dem Ma-

---

[1]) Siehe das Werk von *R. Höber*, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1911. 3. Aufl.

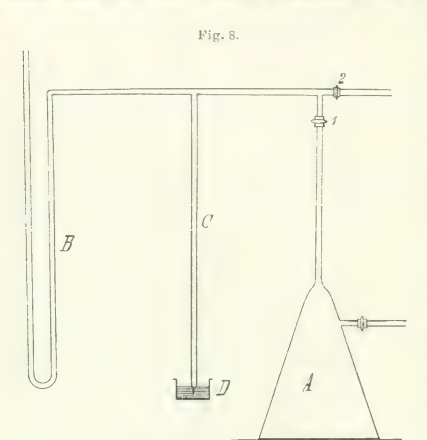
[2]) *F. Czapek*, Über eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena 1911.

[3]) *W. H. Whatmough*, Neue Methode zur Bestimmung von Oberflächenspannungen von Flüssigkeiten. Zeitschr. f. physikal. Chem. 39. 132 (1912).

[4]) Die Zeichnungen aller von mir bearbeiteten Abschnitte stammen von Herrn stud. phil. *J. Gicklhorn*.

nometer und der in eine Kapillare ausgezogenen Spitze, welche in die zu untersuchende Flüssigkeit eintaucht (Fig. 8. Übersichtsbild). Das Vorratsgefäß A des Druckreservoirs faßt ungefähr 5 Liter. Die Röhre B wird, ehe sie in den Gummistöpsel eingeführt wird, mit einer starken Gummilösung bestrichen und der Kautschukpfropf so tief in den Flaschenhals hineingetrieben, daß eine Vertiefung von $^1/_2$ *cm* entsteht, die mit Schellack ausgegossen wird und größeren Drucken Widerstand geboten wird. Mit einer Radfahrpumpe wird die den Überdruck erzeugende Luft bei C in die Flasche getrieben, an C ist ein Stückchen Vakuumschlauch und ein Radreifenventil D angesetzt, das Manometer J kontrolliert den (Fig. 9 detailliertes Gesamtbild) Überdruck. Zwei U-rohre G_1 und G_2, von denen das eine mit Watte, das zweite mit Chlorkalzium gefüllt ist, sorgen dafür, daß die Luft, bevor sie in den Apparat gelangt, von Staub und Feuchtigkeit befreit wird. Hahn 5 wird nach Bedarf weniger oder mehr geöffnet, so daß der Druck in den Kapillaren nur langsam ansteigt, die Hähne 1 und 2 geben bei entsprechender Regulierung einen langsamen Druckzuwachs, während 5 geschlossen ist. Hahn 1 wird vollständig, Hahn 2 nur so weit geöffnet, daß das Manometer einen Druckzuwachs von ca. 1 *cm* Schwefelsäure in der Minute anzeigt, in welcher Lage es dauernd festgehalten wird. Der Druck in A wurde auf ca. 40 *cm* Quecksilber gehalten; wenn durch Öffnen und Wiederschließen des Hahnes 1 auch der Raum B mit Luft von diesem Drucke gefüllt war, erzeugte das beim langsamen Durchgange durch 2 ein allmähliches Anwachsen des Druckes um ungefähr 0·1 *cm* Schwefelsäure in den Kapillaren. Mit Hahn 5 kann so ein rascher, mit vollgeöffnetem Hahn 1 ein regelmäßig langsamer und durch wiederholtes Öffnen und Schließen von 1 ein beliebig langsamer Druckzuwachs in den Kapillaren hervorgerufen werden. Die Hähne 3 und 4 dienen ebenfalls zur Verminderung des Druckes. Durch Öffnen von 3 entweicht die Luft langsam durch die seitliche Kapillare, deren Ende unter die Oberfläche des Wassers bei M taucht, wodurch eine Druckverminderung von 2 *mm* Schwefelsäure in der Minute gegeben ist. Bei Öffnen und Wiederschließen von 4, wodurch der Raum S auf Atmosphärendruck gebracht wird, vermindert sich, wenn dann 3 geöffnet wird, der Druck in

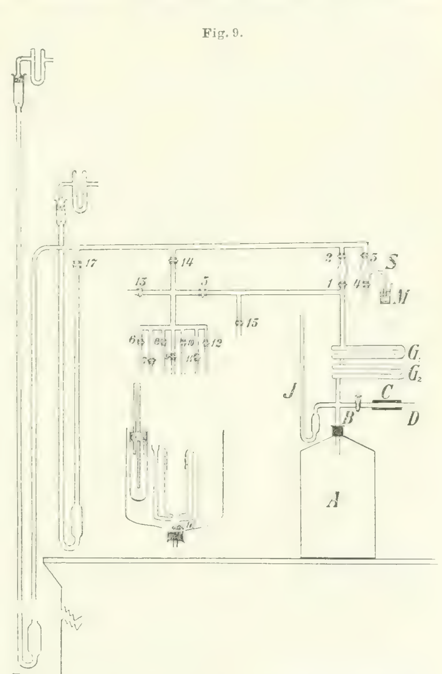
Fig. 8.



Schematisches Übersichtsbild des *Whatmough*schen Apparates.

den Kapillaren um 1 *cm* Schwefelsäure. Man kann also dadurch eine größere Druckabnahme erzielen und zwar genauer als durch Ablassen der Luft durch einen einzigen Hahn. Zur Füllung der Manometer wird zweckmäßig nicht Quecksilber, sondern Schwefelsäure von 98% (die gewöhnliche konzentrierte Säure des Handels) benützt, wobei das offene Manometerende durch ein Chlorkalziumrohr vor dem Eindringen von Feuchtigkeit geschützt wird. Das kürzere Manometer wird zu Messungen unterhalb 50 *cm* Druck benützt, welche Ablesungen am großen Manometer, das bis auf den Fußboden reicht, zu unbequem sind. Bei Benützung des großen Manometers wird das kleinere durch Hahn *17* von der übrigen Apparatur abgeschlossen.

Fig. 9.

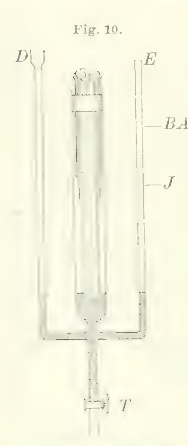


*Whatmough*scher Apparat zur Bestimmung der Oberflächenspannung.

Die Hähne 6—12 sind alle mit gleichdicken Glasröhren verbunden, an welchen je ein Glasrohr mit einer kapillaren Spitze durch Gummischlauch befestigt ist. Die Verbindungsstellen sind mit Schellack überpinselt. Das obere Ende des Kapillarrohres hat den Durchmesser von 3 *mm* und enthält etwas Watte, um den Staub der Luft aufzufangen; an diesem obersten Teil ist ein 15 *cm* langes Stück dünnwandigen Glasrohres von 2 *mm* Durchmesser angeschmolzen. Das untere Ende dieses Rohres ist in eine 1 *cm* lange Kapillare von 0·5 *mm* Durchmesser ausgezogen. Die Herrstellung der Kapillaren erfordert eine besondere Technik. Die Röhre wird in senkrechter Lage festgehalten, so daß sich das kapillare Ende 10—15 *cm* über dem Tische befindet. Die Hähne *5* und *14* sind dabei geschlossen, *12* und *13* offen, um innerhalb der Röhre Atmosphärendruck herzustellen. Dann wird ein kurzer Glasstab fein ausgezogen und an das Ende der Kapillarröhre angeschmolzen, worauf die Kapillare gerade oberhalb dieser Stelle durch eine kleine Flamme so lange erwärmt wird, bis sie durch das Gewicht des daran befestigten Glasstabes in eine sehr

feine Kapillare ausgezogen wird. Die Kapillare wird dann ungefähr 5 *mm* unter der Verjüngung des Glasrohres abgeschnitten. Dann wird Hahn *13* geschlossen und *5* geöffnet, so daß der Druck des Gefäßes *A* sich der Kapillare mitteilt, die Spitze wird unter die Oberfläche der Flüssigkeit getaucht, deren Oberflächenspannung gemessen werden soll. Steigen keine Blasen aus ihr auf, so wird die Flüssigkeit entfernt und mit einer kleinen Schere ein kurzes Endchen der Kapillare abgeschnitten, worauf diese wieder in die Flüssigkeit getaucht wird. Dieses Verfahren wird so lange wiederholt, bis Luftblasen aus der Kapillare hervordringen. Dann wird Hahn *5* gesperrt, *4* geöffnet und darauf *5* wieder vorsichtig geöffnet, bis bei gesperrtem Hahn *14* der Druck im Apparat die Schwefelsäure bis in den oberen Teil des längeren Manometerrohres hebt. Dann wird Hahn *5* wieder gesperrt. Falls bei diesem Druck keine Luftblasen durch die kapillare Spitze ausströmen, wird die Flüssigkeit entfernt und die Spitze sehr gelinde mit Schmirgelpapier behandelt und wieder in die Flüssigkeit gebracht. So können Spitzen angefertigt werden, die zum Durchtretenlassen von Luftblasen einen Druck benötigen, der sich innerhalb ca. 10 *cm* Schwefelsäure beliebig herstellen läßt. Der kapillare Faden darf die Länge von 2 *mm* nicht übersteigen. Auf diese Weise werden sieben Kapillarröhrchen angefertigt, zu einem Bündel vereinigt und von unten das Rohr *AB* (Fig. 10) darüber geschoben; in diesem müssen die sieben Röhrchen gerade bequem ohne gegenseitige Verschiebung auf und ab bewegt werden können. Ein Stück Gummischlauch wird so über seinen oberen Rand geschoben, daß es auch das Bündel fest umschließt. Die sieben Spitzen werden dann möglichst in eine horizontale Ebene gebracht und in dieser Lage durch einige Kupferdrähte festgehalten. Das über die Kapillarröhrchen geschobene weitere Rohr ist ein Teil des Gefäßes (Fig. 9), in dem

Fig. 10.



Anordnung der 7 Kapillarröhren des *Whatmough*schen Apparates.

sich die zu messende Flüssigkeit befindet. Es steht in einer 5 *l*-Flasche, deren Boden abgesprengt wurde, derart, daß in den Tubus der umgestülpten Flasche ein Kautschukstöpsel gesteckt wird, durch dessen Bohrung das Aufnahmegefäß der Flüssigkeit geführt ist. Die Kapillaren sind, wie erwähnt, ins weitere Rohr *AB* gesteckt und dieses wieder steckt in dem Rohr *J* drin, in welches es eben eingepaßt ist und auf dessen oberem Rand es mit einer Erweiterung aufruht. Das Ganze ist mittelst eines Stöpsels in dem Flüssigkeitsaufnahmegefäß befestigt. Das mit diesem kommunizierende trichterförmig erweiterte Gefäßrohr *D* dient zum Einfüllen der Flüssigkeit, wobei natürlich Hahn *T* geschlossen sein muß. Das zweite kommunizierende Rohr *E* dient zum Einführen von Luft, falls die Flüssigkeit bewegt werden soll. Die sieben Kapillarröhrchen, die mit Kupferdraht zu-

sammengebunden und durch den Gummischlauch festgehalten werden, können nun auf und ab bewegt werden, bis die Spitzen genügend weit unter den Spiegel der Flüssigkeit im Rohr eintauchen. Die Manipulation mit Hahn *T* geschieht von oben durch einen Hebel.

Nun wird die Flüssigkeit (immer 5 cm^3) in das Gefäß eingeführt und kann in wenigen Minuten im Thermostaten auf die gewünschte Temperatur gebracht werden. Die Hähne *6* und *11* werden gesperrt, durch Öffnen von *5* der Druck so lange gesteigert, bis Luftblasen aus der kapillaren Spitze austreten, die mit Hahn *12* verbunden ist. Hahn *5* wird dann geschlossen und durch abwechselnden Gebrauch von *3* und *4* der Druck jedesmal um 1 *cm* verringert, bis der Blasenstrom aufhört. Auf diese Weise wird der Gleichgewichtsdruck für dieses Rohr innerhalb eines Zentimeters festgestellt. Darauf wird Hahn *1* geöffnet und der Druck langsam gesteigert, bis wieder Luftblasen aus der kapillaren Spitze austreten. Dann können durch Hähne *1* und *3* die Drucke, bei denen die Luftblasen anfangen und aufhören auszutreten, auf $^1/_5$ *mm* bestimmt werden.

Hahn *12* wird darauf gesperrt, *11* geöffnet und der Gleichgewichtsdruck für die kapillare Spitze, die mit diesem Hahn in Verbindung steht, auf gleiche Weise bestimmt und ebenso für die anderen Spitzen.

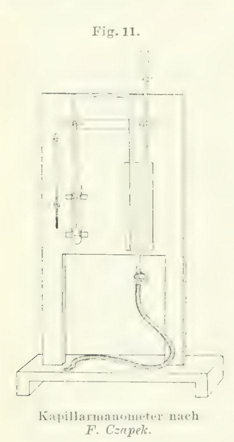
Dann wird die Flüssigkeit durch Hahn *16* entfernt, eine Ausspülung des Gefäßes durch einige Kubikzentimeter der nächsten zu messenden Flüssigkeit bewirkt und von dieser dann wieder 5 cm^3 zur Messung wie früher eingeführt.

Bei *Whatmough*s Messungen stellte es sich als notwendig heraus, zwischen zwei Messungsreihen den Druck im Apparat unter den niedrigsten Gleichgewichtsdruck der kapillaren Spitzen zu verringern und alle Hähne *6* bis *12* offen zu halten. Die Gummischläuche halten nämlich nicht ganz luftdicht und der Druck in den Röhren sinkt, wenn die Zeit zum Austausch der Flüssigkeiten etwas lang ist, bis er nicht mehr genügt, um ein Steigen der Flüssigkeit in denselben zu verhindern, wodurch die ganze innere Fläche der kapillaren Spitze benetzt wird, statt nur der Rand der Öffnung. Das macht bei vielen Flüssigkeitsgemischen die Spitze für weitere Messungen unbrauchbar. Läßt man aber (außer während der Messung selbst, wobei natürlich nur je einer geöffnet wird) alle Hähne *6* bis *12* offen, so ist dieser Übelstand vermieden. Der Druck zwischen zwei Messungsreihen wird deshalb unter dem niedrigsten Gleichgewichtsdruck der kapillaren Spitzen gehalten, weil beobachtet wurde, daß der Gleichgewichtsdruck einer Spitze für eine bestimmte Flüssigkeit stetig zunahm, falls die Luft dauernd durch diese Spitze durchströmte und nicht nur während der Messung selbst. Der *Whatmough*sche Apparat, wiewohl äußerst präzise arbeitend, ist wie man sieht recht kompliziert und demnach ziemlich gebrechlich. Diese Übelstände sind bei dem von *Czapek* konstruierten Instrument vermieden, welches auch schnelleres Arbeiten ermöglicht.

Czapek nennt seinen Apparat, der im wesentlichen ein Wassermanometer ist, dessen kürzerer Schenkel, nochmals U-förmig nach abwärts ge-

bogen, mit einem Kapillarrohre endigt. Kapillarmanometer (Fig. 11). Seine Kapillarweite beträgt 1 *mm*; um durch eine Kapillare von solchen Dimensionen eine Luftblase durchzupressen, ist ein Druck notwendig, der einer Wassersäule von etwas über 50 *mm* entspricht. Die Gleichmäßigkeit der Kapillarmündung ist für den Erfolg der Bestimmung sehr maßgebend. Als Kapillare wird eine Thermometerkapillare gewählt, die genau halbkugelig abgeschliffen ist und deren Mündung Hochpolitur erhalten hat, die Lupe muß möglichste Dünne und Glätte der Mündung zeigen; die Länge ist auch hier 2 *mm*. Von der abgelesenen Druckhöhe muß man die Höhe der Flüssigkeitssäule von der Mündung der eingetauchten Kapillare bis zum äußeren Flüssigkeitsniveau abziehen; die genaue Messung der Distanz zwischen Kapillarmündung und äußerem Niveau ist ebenfalls wichtig. Zu diesem Zweck ist auf der Wand des die Flüssigkeit enthaltenden Gläschens eine Millimeterteilung eingeritzt, das Gläschen wird unter Beobachtung mit einer starken Lupe in den federnden Haltern so lange verschoben, bis die gewünschte Einstellung genau erreicht ist. Zum Einfüllen des Wassers in das Wassermanometer wird ein kleines Gläschen mit genau gearbeitetem Glashahn benützt, welches über dem offenen Manometerschenkel in Klammern angebracht ist. So kann das Wasser mit gut regulierbarer Tropfgeschwindigkeit zufließen gelassen werden, das Zufließen soll nicht schneller erfolgen als man die Steighöhe der Flüssigkeit im Manometer an der Porzellanmillimeterskala bis auf halbe Millimeter ablesen kann. Die Tropfen müssen an der Wand des Rohres herabfließen, weil eine Erschütterung durch freies Herabfallen ein frühzeitiges Losreißen der Luftblase an der Mündung der Kapillare bewirkte. Die Luft wird also langsam aus dem kürzeren Manometerschenkel und der Kapillare verdrängt, die Luftblase wölbt sich an der Kapillarmündung, um bei einem bestimmten Überdruck loszureißen, worauf das Wasser im kürzeren Manometerschenkel eine Strecke weit emporsteigt. Der Stand des Niveaus im kürzeren Schenkel wird abgelesen, dann wartet man, indem man das Wasser im offenen Schenkel langsam nachfließen läßt, bis ein neuerliches Abreißen einer Blase erfolgt, die Differenz wird notiert und gleich eine nächste Bestimmung angeschlossen, wobei die Ablesungen um nicht mehr als einen halben Millimeter differieren dürfen, aus mehreren Bestimmungen schließlich das Mittel genommen.

Fig. 11.



Kapillarmanometer nach *F. Czapek.*

Am Schlusse der Beobachtung wird zunächst das Gläschen mit der zu untersuchenden Flüssigkeit so weit gesenkt, daß die Kapillare nicht mehr eintaucht. Dann wird der in der Biegung des Manometers angebrachte Hahn geöffnet, worauf das Wasser aus dem Manometer abfließt.

Nun befestigt man an dem Glasrohre des Hahnes einen Kautschukschlauch, schließt den offenen Manometerschenkel mit dem Finger und bläst den in der Kapillare festgehaltenen Flüssigkeitsrest heraus. Nun muß die Kapillare sofort zunächst mit destilliertem Wasser, dann mit heißer Chromsäuremischung sorgfältig wiederholte Male ausgespült werden. Die Waschflüssigkeit wird durch Ansaugen in die Kapillare gebracht. Schließlich wird mit vollkommen fettfreiem Wasser nachgewaschen, worauf sofort eine neue Bestimmung angeschlossen werden kann. Das graduierte, etwa 10 *cm*^{3} fassende Gläschen wird ebenfalls sorgfältigst gereinigt und dann die zu untersuchende Flüssigkeit hineingefüllt, von der 2—3 *cm*^{3} im Notfalle genügen. Durch Ansaugen der Untersuchungsflüssigkeit und wieder Zurückdrücken in das Gläschen wird der Fehler vermindert, der gegeben ist, wenn die Kapillare noch feucht geblieben war. Hat man etwa verschiedene Konzentrationen einer und derselben Flüssigkeit zu untersuchen, so genügt das Ausspülen mit Wasser und das genannte An- und Absaugen der neuen Quantität. Das Wasser für die Manometerfüllung muß gleichfalls staub- und fettfrei sein, gewöhnliches destilliertes Wasser muß jedenfalls nochmals destilliert werden. Sehr bedeutend ist der Einfluß der Temperatur; am Stative des Apparates ist deswegen möglichst nahe der zu untersuchenden Probe ein Thermometer angebracht, die Temperatur zu Beginn und am Ende des Versuches wird abgelesen, die Resultate werden unter Zugrundelegung der Gleichung $\sigma_\tau = \sigma_0 (1 + \gamma t)$ umgerechnet, wobei für $\gamma = 0{\cdot}002$ angenommen wird, was dem Wasser und den stark verdünnten organischen Lösungen, die hier in Betracht kommen, annähernd gleich entspricht. Die Resultate werden ferner auf Wasser $(\sigma) = 1{\cdot}00$ berechnet, welches den Vorteil einer sehr hohen Oberflächenspannung besitzt, so daß die Differenzen zwischen den untersuchten Werten entsprechend groß ausfallen, wogegen freilich der Nachteil steht, daß minimale Fettspuren die Oberflächenspannungswerte sehr beträchtlich ändern.

Die zahlreichen von *Czapek* durchgeführten Bestimmungen des Wasserwertes ergaben für das benützte Kapillarmanometer die besten Resultate bei einer Niveaudifferenz von 51·5 *mm*. Die Fehlergrenze der vorgenommenen Bestimmungen liegt bei 1%, die Genauigkeit ist also bemerkenswert groß.

Czapek hatte schon früher gefunden, daß die Gerbstoffexosmose aus den subepidermalen Blattzellen von Echeveria unter der Einwirkung verschiedener Alkohole bei Konzentrationen beginnt, welche dieselbe Oberflächenspannung haben. Solche Lösungen werden äquikapillar genannt. Die Untersuchungsobjekte sind die gerbstoffreichen unter der Oberhaut liegenden Blattzellen verschiedener Echeveriaarten. Mit Ammoniak, Koffein, Antipyrin, Pyridin, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, aliphatischen Aminen etc. sind hier Gerbstoffniederschläge zu erhalten.

Befindet sich in der Pflanzenzelle der normale Gerbstoffgehalt (bei absterbenden oder getöteten Zellen diffundiert eine größere Menge des Gerbstoffes durch die veränderte Plasmamembran heraus, so daß in diesem

Falle keine deutlichen Niederschläge zu erhalten sind), so treten mit Koffein ganz charakteristische zu Ballen vereinigte Niederschlagstropfen, die Aggregationen auf; durch Zusammenfließen solcher Flüssigkeitstropfen entstehen eigenartige schaumige Myelinformen. Mit Tannin treten die Fällungen um so leichter ein, je konzentrierter die Gerbstofflösung ist, und werden mit abnehmender Konzentration immer kleinertropfig, bis sie schließlich nur mehr als weiße (im auffallenden Licht) oder braune (im durchfallenden Licht) Trübung zu erkennen sind.

Von den verwendeten Echeveriablättern (besonders geeignet ist die dickblätterige Echeveria Scheideckerii) trennt man mit mehreren großen Schnitten von der Unterseite des Blattes mit dem Rasiermesser die Epidermis mit den anhaftenden Lagen von Mesophyll ab und dreht dann die Schnitte um, so daß die Mesophyllzellen nach oben zu liegen kommen. Außer den Crassulaceen sind aber zur Untersuchung der Oberflächenspannung der Plasmahaut auch geeignet: Rosa, Oxalis, Paeonia (Blumenblätter), Fragaria (Blattepidermis), Pelargonium zonale (Haare und Epidermis), Primula sinensis (Blattepidermis), Taraxacum officinale (Wurzeln) etc. Bei Saxifraga sarmentosa, Tentakeln von Drosera, Epidermis von Acer bietet außer dem Gerbstoff auch noch der Anthokyanfarbstoff Vorteile der Beobachtung, der die Gerbstoffballen tiefrot färbt und so leicht unterscheidbar macht. Aber nicht nur Gerbstoffexosmose, sondern auch Exosmose von gelösten Zellsaftpigmenten kann zur Beurteilung der Oberflächenspannung der Plasmahaut herangezogen werden, wobei man schon wie bei der roten Rübe in der Färbung des umgebenden verdünnten Alkohols ein Kriterium der eintretenden Exosmose besitzt, oder man beobachtet mikroskopisch den Zeitpunkt der Zellenentfärbung. Solche anthokyanführende Schnitte dürfen nicht allzulange in verdünntem Alkohol liegen, weil das zu sekundären Störungen Veranlassung geben kann; Schnitte aus roter Rübe werden in fließendem Wasser sorgfältig ausgewaschen und der Versuch der Abhängigkeit der Exosmose von der Oberflächenspannung wässeriger Alkohollösungen etwa 12 Stunden nach der Aufstellung vorgeführt.

Schnitte von Echeveriablättern läßt man in wohlverschlossenen Glasfläschchen in ca. 50 cm^3 der Lösung an lichtgeschütztem Orte mehrere Stunden stehen, bevor man die Bestimmung des Exosmosegrenzwertes vornimmt. Soll auf Koffeinreaktion z. B. bei Spirogyra geprüft werden, so kommen die Schnitte aus dem Alkohol nach kurzem Auswaschen in destilliertem Wasser in die $\frac{m}{100}$-Lösung (2·12 *g* auf einen Liter) des Koffeins, und die Prüfung wird nach mindestens einstündigem Verweilen in dieser Lösung vorgenommen. Am genauesten arbeitet man, soweit Alkohole in Betracht kommen, mit den beiden Propylalkoholen, welche von Prozent zu Prozent der Konzentration deutliche Tensionsdifferenzen aufweisen. Der kritische Tensionswert der Alkohole schwankt für die von *Czapek* untersuchten Pflanzenzellen zwischen 0·68 und 0·69 der Oberflächenspannung des Wassers.

Bei Verwendung von wässerigen Ätherlösungen wie überhaupt bei Flüssigkeiten niederen Siedepunktes ergibt sich in den Sommermonaten bei der Bestimmung der Oberflächenspannung die Schwierigkeit, daß infolge des großen Dampfdruckes eine Verzögerung des Durchpressens der Luftblase durch die Kapillare eintritt, so daß die Druckwerte zu hoch ausfallen. Durch leise Erschütterung des Manometers, wodurch die Luftblase zum Austreten gebracht wird, vermeidet man diese Fehlerquelle.

Nach den Untersuchungen von *Czapek* beginnen alle wasserlöslichen und oberflächenaktiven Stoffe auf die Exosmose von Inhaltstoffen lebender Pflanzenzellen in jenen Konzentrationen zu wirken, welche dem Tensionswerte 0·685 bezogen auf die Oberflächenspannung des Wassers entspricht. Nach dem *Gibbs*schen Theorem finden sich diejenigen Stoffe, welche die Oberflächenspannung am meisten erniedrigen, am reichlichsten in der äußersten Plasmaschichte. Wenn dies ein Resultat der *Czapek*schen Versuche — unabhängig von der chemischen Natur der betreffenden oberflächenaktiven Substanz jedesmal bei einer bestimmten Oberflächenspannung die abnorme Durchlässigkeit der Plasmahaut auftritt, so muß die eingedrungene Flüssigkeit die oberflächenaktiven Stoffe der Plasmamembran verdrängt haben, d. h. die eingedrungene Substanz muß selbst stärker oberflächenaktiv sein als jene Bestandteile der Plasmahaut. Auf diese Weise kann man aus der kritischen Tension der betreffenden oberflächenaktiven Substanz, welche gerade eine Störung des diosmotischen Verhaltens der Plasmamembran hervorruft, auf die Oberflächenspannung der Plasmahaut schließen, ganz ebenso wie der Turgordruck der lebenden Zelle durch die Konzentration der Salzlösungen bestimmt wird, welche auf diesen Turgordruck einwirken. Auch der Turgordruck ist ebenso wie die Oberflächenspannung von der chemischen Natur der betreffenden Stoffe weitgehend unabhängig. Die Oberflächentension der Plasmahaut muß also nach den ausgeführten Untersuchungen sehr nahe dem Werte 0·685 der Grenzspannung des Wassers gegen Luft oder bei 52·37 Dynen liegen. Zur Bestimmung der Oberflächenspannung ist zweckmäßig eine Flüssigkeit zu wählen, welche wie der leicht rein erhältliche Normalpropylalkohol deutliche Differenzen der Oberflächenspannung bei Konzentrationsintervallen von 1 % deutlich zeigt, ohne daß kleine Fehler in der Genauigkeit der hergestellten Konzentrationen allzusehr ins Gewicht fielen. Besonders günstige Resultate liefert auch das Äthylurethan. Die Oberflächentension des Plasmas ist ein viel konstanterer Wert als der osmotische Druck des Zellinnern, welcher sich durch erhebliche Steigerung den geänderten Außenverhältnissen anzupassen instande ist, während die plasmatische Oberflächenspannung sich vielmehr unter verschiedenen anderen Bedingungen ziemlich auf gleicher Höhe hält.

Die plasmolytische Methode von *W. W. Lepeschkin*.[1]) Es seien zunächst die hier in Betracht kommenden Termini definiert. Turgor und

[1]) *W. W. Lepeschkin*, Über den Turgordruck der vakuolisierten Zellen. Ber. d. Deutschen bot. Ges. **26a**, 198 (1908). — Derselbe, Über die Permeabilitätsbestimmung der Plasmamembran für gelöste Stoffe. Ebenda. **27**. 129 (1909).

Turgeszenz nennt man die Erscheinung der Straffheit der Zellen, hervorgerufen durch den inneren Zelldruck. Der gesamte Druck, welcher vom Zellinhalt auf die Membranen der Zelle (Zellwand oder Plasmamembranen) ausgeübt wird, ist als Turgordruck zu bezeichnen und wird in Atmosphären (1033 *g* auf 1 *cm*²) ausgedrückt. Der Turgordruck ist wenigstens aus vier Kräften zusammengesetzt, aus dem osmotischen Druck, dem Zentraldruck (entstehend aus der Kohäsion der Moleküle des zähflüssigen Plasmas), dem Quellungsdruck des Plasmas und dem osmotischen Druck der im Plasma gelösten Stoffe. Die beiden letzteren üben aber keinen Einfluß auf den Turgordruck vakuolisierter Zellen aus, weil sie gegen Zellwand und gegen Vakuole mit gleicher Kraft einwirken. Der Turgordruck der Zelle ist demnach $P = p_i - p_a - p_e$, wo p_i = osmotischer Druck des Zellsaftes, p_a = jener der die Zellhaut durchtränkenden gelösten Stoffe, p_e = Zentraldruck irgend einer Vakuole bedeutet. Für die direkte Bestimmung des Turgordruckes gibt es bisher keine genaue Methode, man muß ihn also aus den Komponenten berechnen. Der osmotische Druck der das Plasma umgebenden Flüssigkeit und auch der des Zellsaftes wird durch die Permeabilität der Plasmamembran für gelöste Stoffe beeinflußt. Nun ist die Permeabilität des Plasmas gerade für Salpeter, dessen plasmolysierende Wirkung am häufigsten für die Bestimmung des Turgordruckes herangezogen wird, ziemlich groß, daher mußten die erhaltenen Werte des osmotischen Druckes immer mit Berücksichtigung dieser Permeabilität korrigiert werden. Wenn, wie das in der Natur meistens der Fall ist, die im Zellsaft gelösten Stoffe die Plasmamembran nicht so leicht durchdringen wie Salpeter, so mußte sich der tatsächliche osmotische Druck des Zellsaftes bei entsprechender Permeabilitätsänderung gerade da vermehrt haben, wo man durch Salpeterplasmolyse seine Verminderung feststellt.

Der osmotische Druck ist eine Funktion der diosmotischen Eigenschaften einer Membran. Wenn wir mit P den beobachteten osmotischen Druck einer Lösung, mit P_0 den osmotischen Druck derselben Lösung, aber in Voraussetzung der Impermeabilität der Membran für gelöste Stoffe, mit μ eine der Permeabilität der Membran proportionale Größe (Permeabilitätsfaktor) bezeichnen, so ist $P = P_0 (1 - \mu)$. Denken wir uns in einem Zylinder über eine Zuckerlösung reines Wasser geschichtet und von dieser durch eine feste, verschiebbare, absolut semipermeable Wand getrennt und verschieben wir diese um eine sehr kleine Strecke nach unten, so beträgt, wenn das Volumen, um welches der Stempel gesenkt wurde, mit Δ_v bezeichnet wird, der dazu nötige Arbeitsaufwand P_{Δ_v}. Wäre aber die Wand für Zucker permeabel, so wäre der Lösung durch den Stempel nicht reines Wasser, sondern eine Zuckerlösung geringerer Konzentration entzogen worden, weil Zucker nach der Seite des Wassers hin diosmiert. Der Arbeitsaufwand wäre also in diesem Falle P_{Δ_v} p_{Δ_v}, worin p den osmotischen Druck dieser entzogenen verdünnteren Lösung bedeutet. Nun ist aber die Diffusionsgeschwindigkeit proportional der Konzentration der

Lösung, von welcher aus die Diffusion stattfindet, also p proportional P, daher der Arbeitsaufwand $P_{\Delta v}(1-k)$, wo k eine Konstante bedeutet, die von der Permeabilität abhängig ist. Die Kraft wird dann ausgedrückt durch $P_0 = P(1-k)$. Der beobachtete osmotische Druck wird also wie früher durch den theoretischen Druck und die Permeabilität der Membran ausgedrückt. Nach der Regel von *Arrhenius Van't Hoff* ist der Druck von der Konzentration der Lösung, der elektrolytischen Dissoziation der gelösten Stoffe und der Temperatur abhängig: $P = RCT[1 + (n-1)\alpha]$, worin R die Gaskonstante 0·0821, C die Konzentration in Grammolekülen pro Liter, T die absolute Temperatur, n die Ionenzahl und α der Dissoziationsgrad ist. Demnach ist $P = P_0(1-\mu) = RCT[1 + (n-1)\alpha](1-\mu)$.

Die Abhängigkeit des tatsächlichen osmotischen Druckes von der Permeabilität der Membran für gelöste Stoffe muß sich auch am osmotischen Drucke des Zellsaftes und der die Zellwand durchtränkenden Flüssigkeit äußern, weil ja der Plasmaschlauch wohl für alle Stoffe mehr oder weniger permeabel ist.

Wenn man die isotonischen Koeffizienten der mittelst Plasmolyse erhaltenen Werte mit den theoretisch berechneten vergleicht, so kann man den Einfluß der Plasmapermeabilität auf den osmotischen Druck am besten bei jenen Stoffen einschätzen, welche wie Glyzerin, Harnstoff, Salpeter, den Plasmaschlauch am leichtesten passieren. *De Vries* fand bei Glyzerin für den isotonischen Koeffizienten die Zahl 1·78, während der theoretische, auf Grund der Dampfspannungen von Glyzerin- und Zuckerlösungen berechnete Koeffizient 1·86 ist. *De Vries* benützte eine Zuckerlösung von der Konzentration 0·2 *g*-Mol. im Liter, welche eine Dampfspannungserniedrigung von 0·0168 *mm* zeigt. Die molekulare Dampfspannungserniedrigung der Glyzerinlösung mit der gleichen Dampfspannungserniedrigung ist 0·083 *mm*, daher die isotonische Konzentration der Glyzerinlösung $\frac{0·0168}{0·083} = 0·2024$ *g*-Mol. im Liter. Als isotonischer Koeffizient von Glyzerin ergibt sich, den von Zucker = 1·88 gesetzt, nach der Formel von *Arrhenius* $\frac{0·2 \cdot 1·88}{0·2024} = 1·86$, also derselbe wie für Zucker. Für Harnstoff ist der gefundene Wert 1·7, der theoretische 1·81, für Salpeter 3, resp. 3·38, immer werden infolge der Permeabilität der Plasmamembran die isotonischen Koeffizienten zu niedrig gefunden. Ist C_1 die Konzentration eines bestimmten plasmolysierenden Stoffes, C_2 die isotonische Konzentration eines anderen, P_0 der gemeinsame osmotische Druck beider Lösungen, Impermeabilität des Plasmas vorausgesetzt, so sind die molekularen osmotischen Drucke der beiden Lösungen:

$$p_{m1} = \frac{P_0}{C_1}$$

$$p_{m2} = \frac{P_0}{C_2}$$

$$\frac{p_{m1}}{p_{m2}} = \frac{C_2}{C_1}$$

Bezeichnet K_1 und K_2 die theoretischen isotonischen Koeffizienten, so ist: $\frac{C_2}{C_1} = \frac{K_1}{K_2}$, daher

$$\frac{p_{m1}}{p_{m2}} = \frac{K_1}{K_2}$$

Im Falle der Permeabilität der Plasmamembran für die beiden plasmolysierenden Stoffe werden andere isotonische Konzentrationen erhalten. Bezeichnen wir diese durch $C_1{}^1$ und $C_2{}^1$ und den gemeinsamen osmotischen Druck mit P, so ist wieder:

$$p_{m1}{}^1 = \frac{P}{C_1{}^1}$$

$$p_{m2}{}^1 = \frac{P}{C_2{}^1}$$

$\frac{p_{m1}{}^1}{p_{m2}{}^1} = \frac{C_2{}^1}{C_1{}^1}$ und da $\frac{C_2{}^1}{C_1{}^1} = \frac{K_1{}^1}{K_2{}^1}$, wo $K_1{}^1$ und $K_2{}^1$ die wirklichen isotonischen Koeffizienten sind

$$\frac{p_{m1}{}^1}{p_{m2}{}^1} = \frac{K_1{}^1}{K_2{}^1}$$

Nach der früher abgeleiteten Formel ist $p_{m1}{}^1 = p_{m1}(1 - \mu_1)$, wobei μ_1 und μ_2 die Permeabilitätsfaktoren sind: $p_{m2}{}^1 = p_{m2}(1 - \mu_2)$

Daher $$\frac{K_1{}^1}{K_2{}^1} = \frac{K_1}{K} \frac{(1-\mu_1)}{(1-\mu_2)}$$

Ist einer der plasmolysierenden Stoffe Zucker, der nicht permeiert, so wird $\mu_1 = 0$ und $K_1 = K_1{}^1 = 1{\cdot}88$. In diesem Falle ist $\mu_2 = 1 - \frac{K_2{}^1}{K_2}$. Die Größe μ_2 ist der Permeabilität proportional. Unter Permeabilität der Membran für einen bestimmten Stoff verstehen wir mit *Lepeschkin* das Verhältnis der Anzahl Grammoleküle dieses Stoffes, die in einer Stunde durch die Membran passieren, zum Konzentrationsabfall, ausgedrückt in Grammolekülen pro Liter. Wenn $\mu_1 > 0$ ist, so ist $\mu_2 = 1 - \frac{K}{K_1} M$, wo $M = \frac{1{\cdot}88}{K_0}(1 - \mu_1)$; K_0 ist der isotonische Koeffizient von Zucker, vorausgesetzt, daß die Membran für diesen Stoff permeabel ist, der Permeabilitätsfaktor ist durch μ_1 ausgedrückt. M ist nahe dem Wert 1, z. B. 0·97, wenn die osmotischen Eigenschaften von Zucker denen des Glyzerins gleich wären. Mit Hilfe dieses Ausdruckes ist eine experimentelle Prüfung der Abhängigkeit des osmotischen Druckes von der Permeabilität des Plasmaschlauches für den plasmolysierenden Stoff möglich.

Die Versuche wurden mit der Alge Spirogyra und Glyzerin angestellt. Die isotonischen Koeffizienten K_1 können für Glyzerin mit einer

Genauigkeit von 0·002—0·005 bestimmt werden, der theoretische Koeffizient K läßt sich natürlich ebenso genau berechnen. Ein Spirogyrafaden wird durch ein Glashärchen mittelst eines Gemisches von Terpentin und Wachs auf einem großen Deckgläschen befestigt und dasselbe über einen niedrigen ($1^1/_2$ *cm* hohen und $2^1/_2$ *cm* breiten) auf den Objektträger geklebten Glaszylinder umgekippt. Das Deckgläschen wurde mit dem Gemisch von Wachs und Terpentin gedichtet. In den Zylinder, der seitwärts einen mit Pfropfen abgeschlossenen Tubus hatte, wurde zunächst die Zuckerlösung bestimmter Konzentration gebracht, in der die Alge eine Stunde verblieb; nachdem die plasmolysierten Zellen gezeichnet worden waren, wurde die Zuckerlösung durch die isotonische Glyzerinlösung ersetzt, worin die Zellen nach 30 Minuten und nach 2 Stunden wiederum gezeichnet wurden.

V_1 = erstes Volumen
V_2 = zweites „
V_3 = drittes „
C_1 = Konzentration der Zuckerlösung
C_2 = „ „ Glyzerinlösung, demnach

C_x, d. i. die Konzentration der Glyzerinlösung, die der Zuckerkonzentration C_1 isotonisch ist, gleich $C_x = \frac{\left(V_2 - \frac{V_3 - V_2}{4}\right) . C_2}{V_1}$ und der isotonische Koeffizient von Glyzerin $K_1 = \frac{C_1 . 1·88}{C_x}$. Die Permeabilität des Glyzerins ist folgende: $\frac{(V_3 - V_2) . C_2}{1000}$ *g*-Mol. ist die Menge Glyzerin, die während zwei Stunden eindringt, dann ist die Permeabilität β, die mittlere Oberfläche des Protoplasten mit Pq.c berechnet, $\beta = \frac{V_3 - V_2}{1000P\left(1 - \frac{(V_3 - V_2)(V_3 + 4V_2)}{8V_2 . V_3}\right)}$.

Aus den Versuchen wurde der Proportionalitätskoeffizient h in der Gleichung $h\beta = \mu$ berechnet, wo β die Permeabilität, μ der Permeabilitätsfaktor ist. Die Größe μ kann aus den isotonischen Koeffizienten nach der oben angegebenen Formel bestimmt und aus ihr β berechnet werden. Noch mehr als bei Glyzerin, wo $\mu = 0·08$ ist, beeinflußt die Permeabilität den osmotischen Druck der Außenlösung bei Salpeter und Kochsalz; da im Ausdruck $h\beta = \mu$ die Größe h bei diesen beiden Stoffen größer ist als bei Glyzerin, lassen sich hier die isotonischen Koeffizienten noch genauer bestimmen.

Zunächst wurde die Länge eines Spirogyrafadens in einer Zuckerlösung von der Konzentration 0·118 *g*-Mol. im Liter und darauf in einer solchen von 0·16 *g*-Mol. bestimmt (0·16—0·118 = 0·042 *g*-Mol., entsprechend einer Atmosphäre), die Längenzunahme des Fadens pro Stunde bestimmt und die Zuckerlösung durch eine beinahe isotonische Glyzerinlösung von der Konzentration 0·19 *g*-Mol. ersetzt, die Längenzunahme des Fadens in-

folge Glyzerinendosmose und Wachstum wiederum bestimmt. Darauf die Glyzerinlösung durch eine Zuckerlösung von der Konzentration 0·181 *g*-Mol. ersetzt und die Längenzunahme wieder gemessen. Die Länge l des Fadens vergrößert sich in Glyzerin um 0·052 Teilungen des Objektträgers pro Stunde, nach den mittleren Zahlen der Versuche, das Fadenwachstum macht gleichzeitig 0·018 Teilungen aus, daher die Vergrößerung durch Glyzerinendosmose allein 0·034 Teile pro Stunde. Beim Übertragen des Fadens aus der Zuckerlösung von 0·118 *g*-Mol. in die von 0·16 *g*-Mol., also bei einer Verkleinerung des Zellturgordruckes um eine Atmosphäre (siehe oben) verkleinert sich derselbe um 0·25 Teilungen. Infolge Glyzerinendosmose vergrößert sich also der Zellturgordruck um $\frac{0{\cdot}034}{0{\cdot}25} = 0{\cdot}14$ Atmosphären pro Stunde; das entspricht einer Vergrößerung der Glyzerinkonzentration in den Zellen um 0·0063 *g*-Mol. pro Stunde. Da das Verbleiben des Fadens im Glyzerin 5 Stunden dauerte, so war das Konzentrationsgefälle bei der ersten Beobachtung $c_1 - c_2 = 0{\cdot}19 - 0{\cdot}006 = 0{\cdot}184$ *g*-Mol. und nach dem Verbleiben des Fadens im Glyzerin $c_1 - c_2 = 0{\cdot}19 - 0{\cdot}0063 \times 5 = 0{\cdot}159$ *g*-Mol. Das Fadenvolumen ist, da der innere Fadendurchmesser $D = 0{\cdot}28$ Teilungen, die Fadenlänge = 47·98 Teilungen beträgt $(\pi \frac{D^2}{4} l)$, 2·9544 kub. Teilungen des Objektträgers, d. i. $72909 . 10^{-10}$ *cm*³, da eine Teilung = $^1/_{75}$ *cm*³ ist. In einer Stunde diosmierte also in das Zellinnere $\frac{72909 . 10^{-10} . 0{\cdot}0063}{1000} = 45932 . 10^{-15}$ *g*-Mol. Glyzerin, und da die Fadenoberfläche $(\pi D l)$ 42·205 quadratische Teilungen $= 77074 . 10^{-7}$ *cm*² ist, so ist die Permeabilität $\beta = \frac{p}{c_1 - c_2} = \frac{45932 . 10^{-8}}{77074 . 0{\cdot}17} = 35 . 10^{-9}$, wo p die endosmierte Glyzerinmenge, c_1 die Glyzerinkonzentration außerhalb, c_2 jene innerhalb der Zelle ist und das Konzentrationsgefälle $c_1 - c_2$ nach obiger Berechnung im Mittel 0·17 *g*-Mol. beträgt.

Methode von *A. Tröndle*.[1]) *Tröndle* machte die Beobachtung, daß Palisaden- und Schwammparenchymzellen von Schnitten eines Lindenblattes und anderer Objekte, die in Kochsalzlösungen von 0·2—5 Mol. lagen, nach 12 Stunden noch nicht plasmolysiert, also für NaCl in hohem Grade permeabel waren. Während die Plasmolyse durch Kochsalz dergestalt schon nach $2^1/_2$—5 Stunden völlig zurückgegangen war, dauerte derselbe Vorgang bei einer annähernd gleich starken Plasmolyse in Saccharose mehr als $1^1/_2$ Tage. Während also diese Zahlen für Kochsalz relativ stark permeabel sind, dringt Rohrzucker kaum ein; diese beiden Stoffe können daher dazu dienen, eine allfällige Veränderung der Permeabilität für Kochsalz unter dem Einfluß der Belichtung festzustellen, von welchem Moment die Undurchlässigkeit für Saccharose unabhängig ist.

[1]) *A. Tröndle*, Der Einfluß des Lichtes auf die Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. 48. 175 (1910).

Die Überlegung, von der *Tröndle* ausgeht, ist folgende: Legen wir einen Schnitt, in dessen Zellen der osmotische Druck P herrscht, in eine Kochsalzlösung, deren osmotischer Druck ebenfalls P ist, so tritt keine Plasmolyse ein, denn während der Versuchszeit dringt eine gewisse Menge NaCl in die Zellen ein, wodurch ein Teil des Außendruckes aufgehoben wird. Der Druck einer osmotisch höherwertigen Lösung, die gerade Plasmolyse bewirkt, sei P_1, sie hält also, da sie eben Plasmolyse bewirkt, dem Zelldruck P das Gleichgewicht, übt also nur den Druck P aus, obwohl sie theoretisch den höheren Druck P_1 erzeugen müßte, sie hat also einen Druckverlust $P_1 - P$ erlitten. Dieser Druckverlust, den die permierende Lösung erleidet, ist ein Mittel zur Messung der Permeabilität, ein doppelt so hoher Druckverlust bedeutet eine doppelt so hohe Permeabilität.

Nun ist der Druck P der Zellen nicht konstant, daher auch nicht der Druckverlust und wir müssen den relativen Druckverlust einführen: den wievielten Teil ihres theoretischen Druckes hat die NaCl-Lösung verloren, also den Wert $P_1 - P = \mu P_1$, worin P_1 der theoretische Druck der Kochsalzlösung, $P_1 - P$ ihr Druckverlust und μ der Druck- resp. Permeabilitätskoeffizient ist. $\mu = 1 - \frac{P}{P_1}$ . . . . . . (1). Um μ experimentell zu bestimmen, muß der theoretische Druck P_1 der eben plasmolysierenden Kochsalzlösung und der osmotische Druck P der Zellen bekannt sein, der gleich ist dem Druck der eben plasmolysierenden, nicht eindringenden Rohrzuckerlösung.

Man kann aber auch, statt mit NaCl und Saccharose parallel zu plasmolysieren, den Permeabilitätskoeffizienten anders berechnen. Es werden die plasmolytischen Grenzkonzentrationen von Rohrzucker und Kochsalz ermittelt. Da die beiden Lösungen isotonisch sind, so ist das Verhältnis der Rohrzuckerkonzentration zu der des Kochsalzes, wenn Kochsalz nicht eindringt, gleich dem Dissoziationsfaktor i des Kochsalzes, also $\frac{C\,.\,\text{Rohrzucker}}{C\,.\,\text{Kochsalz}} = i$ . . . . . . (2). Da aber, wie wir gehört haben, das Plasma für NaCl permeabel ist, so tritt bei der Konzentration C . Kochsalz nicht Plasmolyse, sondern erst bei der höheren Konzentration C_1, d. h. die Konzentration C_1 . NaCl übt nicht ihren wirklichen Druck P_1, sondern nur den Druck P aus.

Die Lösung von der Konzentration C_1 . NaCl hat also einen Druckverlust μP_1 oder mit anderen Worten, den Konzentrationsverlust μC_1 . NaCl erlitten, da Druck und Konzentration parallel gehen.

$$C_1\,.\,\text{NaCl} - C\,.\,\text{NaCl} = \mu\, C_1\,.\,\text{NaCl}.$$
$$C\,.\,\text{NaCl} = C_1\,.\,\text{NaCl}\;(1 - \mu).$$

Dieser Wert in (2) eingesetzt ergibt: $\frac{C\,.\,\text{Rohrzucker}}{C_1\,.\,\text{NaCl}\,(1-\mu)} = i$, daher $\frac{C\,.\,\text{Rohrzucker}}{C_1\,.\,\text{NaCl}} = i\,(1-\mu) = i_1$ . . . (3), d. h. wenn die Plasmamembran

für NaCl durchlässig ist, so ist der aus den plasmolytischen Grenzkonzentrationen von Rohrzucker und Kochsalz für NaCl ermittelte Dissoziationsfaktor i_1 identisch mit dem theoretischen Dissoziationsfaktor, multipliziert mit $1 - \mu$. Aus (3) ergibt sich für den Permeabilitätskoeffizienten der Wert $\mu = 1 - \frac{i_1}{i}$ . . . . . (4).

In *Tröndles* Versuchen schwankte die NaCl-Konzentration zwischen 0·6—1·1 Mol. Nach der Formel von *Arrhenius* $i = 1 + (k - 1)\,a$ berechnet sich i für 0·5 Mol. NaCl zu 1·742, für 1 Mol. zu 1·681, deren mittlerer Wert 1·70 für μ eingesetzt wird.

Die experimentelle Berechnung von μ geschieht folgendermaßen: Frisch hergestellte Schnitte von derselben Stelle des gleichen Blattes werden in kleine Näpfchen gebracht, die einerseits Kochsalz-, andrerseits Rohrzuckerlösung enthalten, und 25 Minuten darin belassen, hierauf die Schnitte auf Objektträger in die gleichen Lösungen übertragen und die Plasmolyse mikroskopisch in der Weise verfolgt, daß zunächst die Kochsalzpräparate von der schwächsten bis zur stärksten Konzentration und dann ebenso die Zuckerpräparate durchmustert werden. Für jede Messung werden die Näpfe aus den Stammflaschen frisch gefüllt, nachdem sie vorher mit Wasser ausgewaschen wurden.

Es gelangten 5 aufeinanderfolgende Kochsalz- und Zuckerkonzentrationen zur Verwendung, deren Differenz beim Rohrzucker 0·075 Mol. = 2·565%, beim Kochsalz 0·044 Mol. = 0·257%, betrug, welche beide Differenzen isotonisch sind, da i = 1·7 genommen wurde. Bei diesen Konzentrationen ist die Plasmolyse in der nächstunteren Lösung bedeutend schwächer, in der nächsthöheren deutlich stärker zu beobachten. Die Zuckerlösung muß alle 4—5 Tage, die Kochsalzlösung in entsprechend längeren Zeitabschnitten frisch hergestellt werden. Bei dem angewendeten Konzentrationsunterschied der plasmolysierenden Lösungen reagieren die Zellen sehr deutlich und lassen die geringste Abhebung der Protoplasten erkennen, so daß die Grenzkonzentrationen sich genau feststellen lassen, welche dann angenommen werden, wenn bei den meisten Zellen eben leichte Plasmolyse eintritt, die bei der nächstunteren Konzentration nicht mehr, bei der nächsthöheren deutlich stärker sichtbar ist. Die angewendeten plasmolysierenden Lösungen gestatten die Bestimmung der Grenzkonzentration mit einer Genauigkeit von 0·037 Mol. Saccharose = 1·282% und von 0·022 Mol. NaCl = 0·128% (= 0·22% Salpeter).

Beispiel: Buxus sempervirens:

NaCl	Saccharose.
Mol. 0·75 keine Plasmolyse,	Mol. 1·05 keine Plasmolyse,
„ 0·794 keine Plasmolyse,	„ 1·125 keine Plasmolyse,
„ 0·838 schwache Plasmolyse,	„ 1·2 schwache Plasmolyse,
„ 0·882 etwas stärkere Plasmolyse.	„ 1·275 etwas stärkere Plasmolyse.

Plasmolytische Grenzkonzentration:

NaCl 0·838 Mol.

Saccharose 1·125 Mol.

$i_t = 1{\cdot}125 : 0{\cdot}838 = 1{\cdot}43.$

$$\mu = 1 - \frac{1{\cdot}43}{1{\cdot}70} = 0{\cdot}159 = 0{\cdot}160.$$

Um den Permeabilitätskoeffizienten μ in Salpeterwerten auszudrücken, wird die Änderung von μ bestimmt, wenn während des Versuches nur die plasmolytische Grenzkonzentration der NaCl sich um einen bestimmten Betrag änderte, die des Rohrzuckers dagegen gleich blieb. So wurde z. B. gefunden, daß einer Änderung von 0·022 Mol. NaCl eine mittlere Änderung von $\mu = 0{\cdot}0236$ entspricht. Da wir 0·022 Mol. NaCl isotonisch setzen dürfen mit 0·022 Mol. Salpeter (= 0·22%), so entspricht einem Wert von $\mu = 0{\cdot}0236$ ein Salpeterwert von 0·22%. Daraus berechnet sich für $\mu = 0{\cdot}010$ ein Salpeterwert von 0·093% = ca. $^1/_{10}$%. Das heißt also, wenn sich bei gleichbleibendem osmotischen Druck der Permeabilitätskoeffizient für NaCl während des Versuches um den Wert 0·01 erhöht hat, so muß man, um mit NaCl Plasmolyse zu bekommen, eine Konzentration nehmen, deren osmotischer Wert den der anfänglichen Grenzkonzentration des NaCl um $^1/_{10}$% Salpeter übersteigt.

Anwendung von Adsorption und Kapillarität zur biochemischen Analyse.

Von **Viktor Grafe**, Wien.

Adsorptionsmethode von *A. Tswett.*[1]) Viele Farbstoffe und farblosen Verbindungen, die in Petroläther, Benzol, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff löslich sind, werden aus den entsprechenden Lösungen durch pulverförmige Körper physikalisch niedergeschlagen, indem eine Menge des gelösten Körpers an der Oberfläche der festen Partikelchen adsorbiert, d. h. kondensiert wird. Die Verteilung des Stoffes zwischen dem Lösungsmittel und dem Adsorbator gehorcht nicht dem *Henry*schen Gesetz und der Verteilungskoeffizient ist von der Konzentration abhängig. Für einige gelöste Stoffe und Lösungsmittel wird dieser Koeffizient unendlich klein und der gelöste Stoff wird dann vollständig niedergerissen, kann durch das reine Lösungsmittel nicht ausgewaschen werden. Aus ihren Adsorptionsverbindungen lassen sich die Stoffe durch Alkohol, Äther, Azeton, Chloroform befreien. Ein Adsorbator, welcher mit einem Körper gesättigt ist, vermag noch von einem zweiten eine kleine Menge aufzunehmen, wobei Substitutionen eintreten können. Es gibt eine Adsorptionsreihe, welche vom Lösungsmittel abhängig ist. So wird z. B. aus petrolätherischer Lösung Chlorophyll festgehalten durch: einfache Körper (S, Si, Zn, Fe, Al, Pb, Sb), Oxyde (SiO_2, MgO, MnO_2, PbO, Sb_2O_3, Fe_2O_3, Ag_2O, HgO, U_3O_8), Hydroxyde ($B(OH)_3$, $NaOH$, $Ba(OH)_2$, $Al(OH)_3$), anorganische Chloride ($NaCl$, KCl, NH_4Cl, $CaCl_2$, $MgCl_2$, $AlCl_3$, $FeCl_3$, $CoCl_2$, $CuCl_2$, $HgCl_2$), Chlorate ($KClO_3$), KBr, KJO_3, KNO_3, $Ca(NO_3)_2$, $Ba(NO_3)_2$, Phosphate, Sulfide, Sulfite, Sulfate, Karbonate, Silikate, $KMnO_4$, $K_4Fe(CN)_6$, $K_3Fe(CN)_6$, Oxalsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Chinasäure, Gerbsäure, Harnsäure, Pikrinsäure, Phenolphtalein, Oxalate, Azetate, Harnstoff, Asparagin, höhere Alkohole und Kohlehydrate (Saccharose, Galaktose, Inulin, Dextrin, Amylose, Mannit, Dulzit), Ovalbumin, Pepton, Hämoglobin, Chloralhydrat, Hydrochinon, Resorzin, Pyrogallol, Anilinfarbstoffe, Knochenkohle, Ackererde, Kieselgur etc.

---

[1]) *A. Tswett,* Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. 24. 316. 384 (1906).

Wird eine Chlorophyllösung durch eine Säule eines Adsorptionsmittels durchgeschickt (am besten verwendet man im Trockenschrank getrocknetes $CaCO_3$, das in Filterröhrchen möglichst gleichmäßig festgestampft wird, wie man sie bei der gravimetrischen Zuckerbestimmung verwendet), so werden die Farbstoffe gemäß der Adsorptionsreihe von oben nach unten in verschieden gefärbten Zonen auseinandergelegt, indem die stärker adsorbierten Farbstoffe die anderen weiter nach unten verdrängen, die weniger intensiv zurückgehalten werden. Die Zonen grenzen sich viel schärfer gegeneinander ab, wenn man nach beendeter Filtration einen Strom des reinen Lösungsmittels durch den Adsorbator gehen läßt. Die Komponenten eines Farbstoffgemisches werden dergestalt auseinandergelegt und lassen sich nachher qualitativ und quantitativ bestimmen. Ein solches Präparat heißt Chromatogramm und die Methode die chromatographische. Außer Petroläther eignet sich auch Benzol, Xylol, Toluol und besonders Schwefelkohlenstoff als Lösungsmittel. Außer Chlorophyllösungen wurden chromatographisch schon Lezithin, Alkannin, Prodigiosin, Sudan, Cyanin, Solanorubin untersucht.

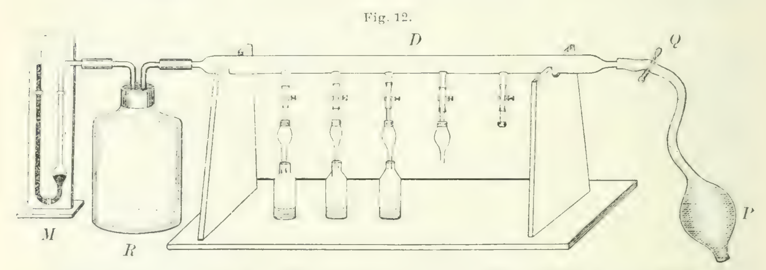
Sehr wichtig ist, daß das Lösungsmittel nicht mit Wasser, Alkohol u. dgl. verunreinigt sei. Nehmen wir das Beispiel des Chlorophylls, so löst sich dieses Farbstoffgemisch wohl in Alkohol oder Äther mit tiefgrüner Farbe. Petroläther, Schwefelkohlenstoff etc. aber liefern immer mehr oder weniger gelbliche Extrakte. Wenn aber das Blattmaterial vorher mit Alkohol durchtränkt wurde, liefern auch die oben genannten Lösungsmittel sattgrüne Auszüge. Der Petroläther soll etwa 10% Alkohol enthalten. Nun wird die grüne Lösung mehrmals mit dem doppelten Volumen Wasser im Scheidetrichter unter fortwährendem Umschütteln ausgewaschen. Der Alkohol geht vollständig ins Wasser und wird aus dem Petroläther so entfernt. Nachdem eine Trocknung des Extraktes über $CaCl_2$ vorgenommen wurde, filtriert man über dem Adsorbator, wobei man das Chromatogramm erhält, während Karotin als gelbe (aus Schwefelkohlenstoff als rosa gefärbte) Lösung durchgeht.

Die mit dem Manometer *M* (Fig. 12) versehene Dreiliterflasche *R* dient als Druckreservoir, in welchem durch die Röhre *D* mittelst der Gummibirne *P* ein gewisser Luftdruck hergestellt werden kann. *P* ist mittelst des Quetschhahnes *Q* von dem Rest des Apparates luftdicht abschließbar. Die Röhre *D* dient als Druckverteiler; sie ist mit einer Anzahl röhrenförmiger Ansätze versehen, an welche die eigentlichen Filtrationsvorrichtungen zu befestigen sind. Diese bestehen aus zylindrischen Filterröhrchen, wie sie bei der gravimetrischen Zuckerbestimmung angewendet werden und laufen wie diese in einen schmäleren Teil aus. Ein ausgebauchtes Filtrationsreservoir dazu zu verwenden, wie es *Tswett* tut, hat sich bei meinen Untersuchungen wegen des schweren Hinausschiebens des Adsorbates zwecks Analyse der einzelnen Farbstoffkomponenten als weniger zweckmäßig erwiesen. Das Filtrationstrichterchen wird mit dem Druckverteiler *D* mittelst eines festschließenden Pfropfens in Verbindung gesetzt.

durch den eine Glasröhre mit Gummiansatz zieht, wodurch das Filterröhrchen mittelst Quetschhahnes beliebig vom Druckreservoir abgetrennt oder mit diesem in Verbindung gesetzt werden kann. Bequemer ist es für größere Farbstoffmengen das größer gewählte Filterrohr in den Hals einer Saugflasche zu montieren und mittelst der Luftpumpe durchzusaugen.

Frisch gefälltes, äußerst feinpulveriges Kalziumkarbonat ist als Adsorbens besonders zu empfehlen, ebenso Saccharose. Es wird 2 Stunden bei 150° getrocknet, dann auf den Grund der Adsorptionsröhre ein dichter Wattepfropf eingepreßt, dann in dünnen Schichten das Pulver aufgestreut und mit einem genau passenden Glaspistill sorgfältig festgestampft. Je homogener die Schichte des Adsorbens ausgefallen ist, desto schöner wird das Chromatogramm; die Höhe soll etwa 5—6 *cm* betragen. Dann wird eine Durchtränkung der Säule mit dem reinen Lösungsmittel vorgenommen; wird das unterlassen, so kommt es beim Filtrieren vor, daß sich die oberen Schichten des Adsorbens abheben und Luftblasen die regelmäßige Textur des Chromatogramms beeinträchtigen. Das Filtrieren im kleinen wird unter

Fig. 12.



Absorbometer zur Entwicklung des Chromatogramms bei kleinen Flüssigkeitsmengen nach *M. Tswett.*

einem Überdruck von 250—300 *mm*, daß der größeren Röhren bei voller Kraft der Wasserstrahlpumpe vorgenommen.

Nach Aufgießen der Farbstofflösung läßt man einen Strom des reinen Lösungsmittels folgen, wodurch das Chromatogramm sich ausbreitet und verschärft. Unadsorbierte Stoffe werden herausgeschwemmt. Andere wieder wandern ringförmig durch und können für sich aufgefangen werden. Nach beendeter Filtration wird durch Absaugen der Überschuß des Lösungsmittels entfernt und die Farbsäule sorgfältig hinausgeschoben, um dann durch das Messer vorsichtig in feine Bestandteile getrennt zu werden.

Chromogramm-Methode von *J. Grüss* zur Analyse von Enzymen.[1])

Auf ausgespanntes schwedisches Filtrierpapier bringt man zunächst einen Wasserring, d. h. man feuchtet eine ringförmige Zone gleichmäßig

---

[1]) *J. Grüss*, Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. **26**a. 191. 620 (1908); 27. 313 (1909). Vgl. hierzu in diesen Bande den Beitrag von *J. Grüss:* Die Kapillarisation zur Unterstützung mikrochemischer Arbeiten.

an (durch Aufdrücken von angefeuchtetem, um eine Glasröhre gelegten Filtrierpapier). In das Zentrum bringt man z. B. 2 Tropfen einer mit $HgCl_2$ und $NiCl_2$ gesättigten Lösung, die alsbald mit dem Wasserring in Berührung kommt und denselben nach außen drängt. Der Vorgang, der im dampfgesättigten Raume stattfinden muß und bei veränderlichen Körpern noch unter Wasserstoff, kommt schließlich zur Ruhe. Alsdann zerschneidet man das Kapillarisationsfeld in Sektoren, die man auf Fließpapier bringt, welches man mit den verschiedenen Reagenzlösungen getränkt hat. Nach der Einwirkung fügt man die Sektoren zum Chromogramm wieder zusammen, auf welchem dann verschiedene Zonen sichtbar geworden sind. Als Indikatoren kann man $K_4Fe(CN)_6 + KJ$ anwenden. Auf dem Chromogramm erscheinen dann zwei Zonen: die äußere ist blaugrün, enthält das Nickelsalz und hat eine Breite von 8 *mm*, die innere zentrale Zone ist rot, enthält das Quecksilbersalz und hat einen Durchmesser von 7—7·5 *cm*, die Breite der äußeren Zone ist ohne Wasserring nur 2 *mm*.

Die mit ein wenig Toluolwasser verdünnte Masse einer obergärigen Hefe, die mit Glaspulver und Glyzerin zerrieben worden war, wurde in der Weise in das Zentrum des Wasserringes gegeben, daß die einzelnen Tropfen nacheinander auffielen. Nachdem unter Wasserstoff sich ein Kapillarisationsfeld ausgebildet hatte, wurde auf demselben die Oxydasereaktion mit Guajak und H_2O_2 hervorgerufen, wodurch ein weites Feld mit violetten Ringen entstand. Die Hefe enthielt danach Oxydase und Hydrogenase (Katalase), welche H_2O_2 spaltet. Die violetten Ringe entsprechen den einzelnen Tropfen. Ein ähnliches Feld, aber mit einfacher Ringbildung, wurde mit Schwefelblumen gleichmäßig bestäubt und dann halbiert. Die eine Hälfte wurde mit Toluolwasser, das ca. 10% Glukose enthielt, die andere ohne Glukose angefeuchtet. Beide wurden mit Bleizuckerlösung getränktem Papier, das auf einer Glasplatte haftete, in 1 *mm* Entfernung zum Auffangen des H_2S überdeckt und kamen in Wasserstoff. Nach 24 Stunden war die Glukosehälfte des Bleipapiers weit mehr geschwärzt, hier war daher durch die Hydrogenase viel mehr H_2S geliefert worden. Das vollständige Chromogramm, das man vom Zellsaft obergäriger Hefen erhalten kann, zeigt von außen nach innen in den einzelnen Zonen folgende Enzymwirkung an: Peroxydase, Hydrogenase, Oxydase, Invertase, Zymase, welche letztere auch stark reduzierende Eigenschaften besitzt. Die Enzyme können also, durch gleichzeitige Kapillaritäts- und Diffusionswirkung voneinander getrennt, nebeneinander in ihrer Wirkung beobachtet und verglichen werden.

Beispiel der Zytase: Die herauspräparierten und sogleich unter Wasserstoff aufbewahrten Endosperme von Gramineen werden mit einigen Tropfen Glyzerin zerrieben und die Masse auf ausgespanntes Filtrierpapier in einen Wasserring unter Wasserstoff gegeben. Wenn sich das Kapillarisationsfeld nicht mehr ausbreitet, sucht man mittelst einer mit Guajak + H_2O_2 befeuchteten Rolle Filtrierpapier die Randlinie zu markieren, die jedoch meistens ohnedies hervortritt. Man schneidet diese Randlinie in

einer Breite von ca. 1 *mm* aus und schichtet Stücke derselben auf einem großen Deckglas spaltförmig zusammen. In den schmalen Zwischenraum bringt man die Testobjekte, also ausgewaschene dünne Schnitte aus den Kotyledonen der Lupine und Stärkekörner. Man läßt nun von der äußeren Seite der Papierstreifen her je 1—2 Tropfen Thymolwasser hinzufließen und kittet dann das so beschickte Deckgläschen mittelst Vaselin auf den hohlen Glasklotz, der einige Tropfen Wasser mit Thymol oder Toluol enthält. Nach 48 Stunden kann man unter dem Mikroskop sowohl die Lösung der Hemizellulose als auch die Korrosion der Stärkekörner beobachten.

Beispiel der Oxydase: Die zerschnittenen Endknospen der jungen Triebe von Pteris aquilina werden mit Wasser ausgepreßt. Man bringt einige Tropfen des unter Druck filtrierten, mit Thymolwasser verdünnten Preßsaftes auf den Kapillisator und behandelt das Feld mit Guajak + H_2O_2: es wird blau mit einer stärker gefärbten Mittelfläche, umgeben von einer weißen Zone, die von einer intensiv blauen Randlinie begrenzt wird. Diese ungefärbte weißbleibende Randzone enthält eine Antioxydase, denn untersucht man ein Kapillarisationsfeld mit Ursoltartratlösung + H_2O_2, so erhält man eine weiße Kreisfläche mit schwach dunkler schieferfarbiger Randlinie, während unterhalb derselben die gelbbraune Färbung der Autoxydation erscheint. Verwendet man zur Kapillarisation einen an der Luft dunkel gewordenen Extrakt, so kann man sehen, daß der braune Farbstoff gleichfalls bis in die äußerste Randlinie vorgerückt ist, woraus man schließen kann, daß sich die Oxydase durch Autoxydation selbst verfärbt oder aber, daß sich Oxydase und Farbstoff in einer Bindung vorfinden, die durch Kapillarisation nicht getrennt werden kann.

Bringt man den alkalisch gemachten, braun gewordenen Extrakt auf den Kapillarisator und das sich bildende Feld, bevor es seine endgültige Ausdehnung erlangt hat, in Essigsäuredampf, so tritt eine Fällung des Farbstoffes ein und die oxydierenden Enzyme kapillarisieren über die Farbstoffgrenze hinaus. Nimmt man dann die Essigsäure durch Ammoniakdampf weg, so kann man durch entsprechende Reaktionen Oxydase und Peroxydase nachweisen.

Quantitative Bestimmung von Säuren und Alkalien durch Kapillarität.[1])

Zieht man auf einem Fließpapier Striche mit Kongolösung, läßt dann in der Mitte aus einer kapillaren Pipette die zu untersuchende Säure ausfließen und mißt den Durchmesser der zwei Kreise, die sich nach einiger Zeit bleibend einstellen, nämlich des durch das Reagens gefärbten und des anderen farblosen, durch reines, kapillar aufgezogenes Wasser gebildeten Kreises, so hat der innere Kreis den Kongostrich gebläut, den feuchten

[1]) *J. Holmgren*, Zeitschr. f. Kolloide. IV. 219; Biochem. Zeitschr. II. 3. 4 (1908); zit. *H. Skraup*, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien. 118. 1909.

Ring um diesen jedoch nicht und dessen äußere Begrenzung gibt die Strecke an, bis zu der das Wasser gedrungen ist, während der innere Ring angibt, bis wohin die Säure gedrungen ist.

Holmgren hat für die quantitative Bestimmung die Formel aufgestellt: $P = \frac{r^2 k}{R^2 - r^2}$, wo P der Prozentgehalt der untersuchten Säure, r der Halbmesser des „sauren", R jener des „feuchten" Kreises und k die Konstante der benutzten Papiersorte ist, welche man durch einen Versuch mit einer Säure bekannter Konzentration ermittelt. Man kann ebensogut die Adsorption in Längsstreifen von Indikatorpapier verwenden, die man in die zu untersuchende Lösung taucht, wobei man nicht die Steighöhen, sondern deren Quadrate in Rechnung zieht, also die *Holmgren*sche Formel auch hier verwendet. Die Konstante für das Papier ist bei $\frac{n}{5}$, $\frac{n}{10}$, $\frac{n}{20}$ HCl 0·20, 0·30, 0·32, bei der Adsorption in Streifen 0·37, 0·30, 0·44. Läßt man HCl, HNO_3, H_2SO_4 in äquivalenten Konzentrationan aufsteigen, so findet man gar keinen Unterschied bei diesen stark dissoziierten Säuren.

Die Steighöhe, bis zu welcher bei Lackmus- oder Kongopapier Farbenänderung eingetreten war, betrug, wenn das Wasser 100 *mm* aufgestiegen war:

	n	$\frac{n}{5}$	$\frac{n}{10}$	$\frac{n}{20}$	$\frac{n}{100}$
Salzsäure	95	81	70	55	19
Bromwasserstoffsäure	—	—	75	57	21
Jodwasserstoffsäure	—	—	67	54	21
Salpetersäure	96	—	68	54	21
Schwefelsäure	97	—	65	56	19
Natronlauge	94	—	75	66	50
Kalilauge	97	—	73	63	48
Ammoniak	—	—	78	85	50
Äthylamin	—	—	87	83	59
Oxalsäure	94	—	70	53	18
Ameisensäure	—	—	—	—	—
Essigsäure	—	—	87	75	39
Propionsäure	—	—	88	75	37
Valeriansäure	—	—	85	—	—
Bernsteinsäure	—	—	90	87	53
Zitronensäure	—	—	89	72	39
Weinsäure	—	—	79	65	23

Starke Alkalielektrolyten verhalten sich also bei größerer Konzentration wie starke Mineralsäuren, bei verdünnten sind die Steighöhen größer; bei schwachen Elektrolyten sind die Steighöhen auch wieder größer als bei äquivalenten Lösungen starker Elektrolyte.

Bei Salzen läßt sich auch die mit fortschreitender Verdünnung steigende Hydrolyse erkennen.

Biologische Methode von *J. Szücs* zur quantitativen Bestimmung basischer und saurer Farbstoffe.[1])

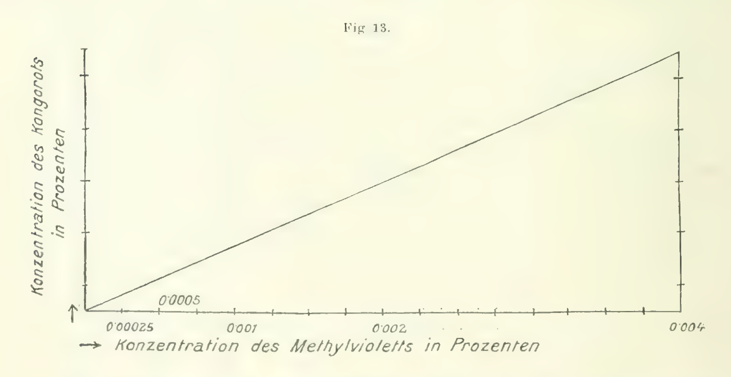
Szücs hat gefunden, daß bei Gegenwart von sauren Farbstoffen die Aufnahme von basischen Farbstoffen in das Plasma gehemmt wird, indem sich saure und basische Farbstoffe zu salzartigen Verbindungen vereinigen, für welche die Plasmahaut impermeabel ist. Als Versuchsobjekt dienten Spirogyrafäden und die Würzelchen von Lemna minor, als diffundierende Farbstoffe Neutralrot, Methylviolett und Kongorot.

Es sei eine Tabelle wiedergegeben (Tabelle XIII der Originalabhandlung):

Konzentration des Methylvioletts in Prozenten	Die letzte experimentell bestimmte Konzentration des Kongorots, die noch nicht hinreicht, den Eintritt des Methylvioletts bis auf 10 Minuten herauszuschieben	Konzentration des Kongorots in Prozenten
0·00025	0·0001	0·00012
0·0005	0·00024	0·00028
0·001	0·00052	0·00056
0·002	0·00108	0·00112
0·004	0·00212	0·00224

Die hemmende Konzentration des sauren Farbstoffes steigt also streng proportional mit der Konzentration des basischen Farbstoffes, was aus folgender Zeichnung noch deutlicher wird (Fig. 13).

Fig 13.



Die verwendeten Spirogyrafäden müssen, sollen die Versuche untereinander vergleichbar sein, von derselben Art sein und von demselben Fundort stammen. Die Fäden werden in destilliertem Wasser sorgfältig abgewaschen und je nach der Empfindlichkeit der Art 5 Minuten bis eine Stunde darin belassen, die ausgewaschenen Fäden mittelst eines am Ende

[1]) *J. Szücs,* Studien über Protoplasmapermeabilität. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien. **119** (1910).

gebogenen Platindrahtes in die betreffende Farbstofflösung gehängt, die Farbstofflösung während des Versuches beständig in Bewegung gehalten. Nach einer bestimmten Zeit wurden die Fäden aus der Farbstofflösung herausgehoben und in eine hypertonische $Ca(NO_3)_2$-Lösung übertragen. Dadurch wird der in der Zellulosemembran gespeicherte Farbstoff entfernt, die weitere Farbstoffdiffusion verhindert. Im Unterlassungsfalle bleibt in der Zellulosemembran eine bestimmte Menge des Farbstoffes, die nach dem Herausheben des Fadens aus der Farblösung noch eine unbestimmte Zeit hindurch weiter in die Zelle diffundiert. Durch das Eintauchen in die Elektrolytlösung kann man aber den Diffusionsprozeß nach beliebiger Versuchszeit praktisch momentan abbrechen. Die Versuchszeit wird mit der Stoppuhr gemessen. Bei Lemna wurden die Wurzeln abgeschnitten, die entwurzelten Exemplare auf nasse Gartenerde in Glaswannen gelegt. Die Kalyptrazellen der regenerierten jungen Wurzeln dienten als Versuchsobjekte.

Beiträge zum Nachweis von Alkaloiden.

Von **Viktor Grafe**, Wien.

Zum Nachweis der Alkaloide dienen 1. gewisse Reagenzien, welche durch das Hervorrufen von Niederschlägen die Anwesenheiten von Alkaloiden anzeigen und 2. solche, welche durch die Entstehung bestimmter Färbungen mitunter auch die Individualität des vorhandenen Alkaloids erkennen lassen.

Solche Fällungsreagenzien, welche zumeist schon mit sehr verdünnten Alkaloidlösungen reagieren, sind:

Phosphormolybdänsäure, deren Fällungen weiß bis gelb sind und bei manchen Alkaloiden auf Zusatz von Ammoniak blau werden. Die Niederschläge sind flockig, voluminös und werden manchmal im Laufe der Zeit kristallinisch; in verdünnten Säuren unlöslich, werden sie bei Zusatz von Alkalien zersetzt. Zur Herstellung der Phosphormolybdänsäure geht man folgendermaßen vor: 150 *g* kristallisiertes molybdänsaures Ammon $(NH_4)_6 Mo_7 O_{24} + 4 H_2O$ werden in 1 *l* Wasser gelöst und die Auflösung allmählich in 1 *l* Salpetersäure (spez. Gew. 1·2) gegossen. Zu dieser Mischung gibt man eine Lösung von Natriumphosphat so lange hinzu, bis kein Niederschlag mehr entsteht (unter schwachem Erwärmen) und filtriert den hellgelben, schweren, pulverigen Niederschlag von Ammonium-Phosphormolybdat $(NH_4)_3 PO_4 . 12 MoO_3$ ab, wäscht mit Wasser nach und suspendiert in einer Sodalösung. Nachdem Lösung eingetreten ist, wird am Wasserbad eingedampft und die Ammonsalze durch gelindes Glühen verjagt. Zweckmäßig befeuchtet man wiederholt mit Salpetersäure und glüht wieder. Schließlich wird der Glührückstand in Wasser, dem ein wenig Salpetersäure zugefügt wurde, gelöst, so daß auf 1 Teil Rückstand 10 Teile Wasser kommen; nach dem Filtrieren ist das Reagens fertig.

Wismutjodidjodkalium: Die mit Schwefelsäure angesäuerten Alkaloidlösungen liefern orangerote, amorphe Niederschläge (Solanin, Digitalin, Veratrin, Narcein werden nicht gefällt).

Wismutjodid BiJ_3 wird in einer gesättigten Jodkalilösung in gelinder Wärme gelöst und noch so viel Jodkalilösung hinzugefügt, als zur Lösung BiJ_3 verwendet wurde.

Tannin (Gerbsäure) gesättigte Lösungen. ist relativ am wenigsten empfindlich.

Da nicht alle Alkaloide mit jedem der genannten Reagenzien gleich empfindlich reagieren. ist es zweckmäßig, mit allen dreien die Probe anzustellen.

Perchlorsäure hat sich bei der Fällung von Alkaloiden und besonders auch bei der Trennung von Strychnin, Bruzin einerseits, Berberin. Hydrastin andrerseits bewährt.[1])

Pikrolonsäure, 4-Nitro-1-p-nitrophenyl-3-methylpyrazolon

$$\begin{array}{ccc} & N\,.\,C_6H_4\,.\,NO_2 & \\ N & & C\,.\,OH \\ \| & & \| \\ H_3C\,.\,C & \text{——} & C\,.\,NO_2 \end{array}$$

liefert schwer lösliche Salze und kann auch zur Isolierung und näheren Bestimmung der Alkaloide dienen. Die Darstellung der Pikrolonsäure.

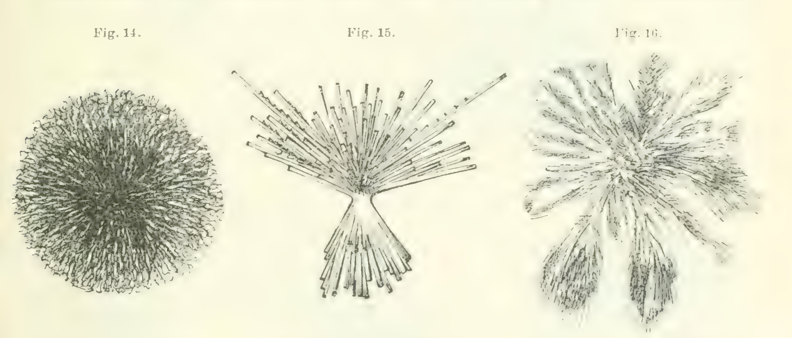


Fig. 14. Kokain-Trinitroresorzin.

Fig. 15. Strychnin-Dinitrokresol.

Fig. 16. Cinchonin-Trinitrophloroglucin.

welche mit Vorteil auch zur quantitativen Alkaloidbestimmung verwendet wird. erfolgt nach *Knorr* und *Bran* (Dissertation. Jena 1899) und *Knorr* und *Zeine* (Dissertation. Jena 1906) folgendermaßen: 90 *cm*³ reiner Salpetersäure von 99·5°/₀ werden mit Wasser unter Kühlung auf 100 *cm*³ zu einer 90°/₀igen Säure vom spez. Gew. 1·495 verdünnt: 600 *cm*³ dieser Säure werden in einen großen Erlenmeyerkolben von 2—3 *l* Inhalt gefüllt und von außen gut durch Eiswasser gekühlt. In diese Säure gibt man 200 *g* Phenylmethylpyrazolon nach und nach in Portionen von ca. 1 *g* hinein. Das Phenylmethylpyrazolon löst sich in der Säure mit dunkelbrauner Farbe und das jedesmalige Eingeben von Substanz ist von einer

[1]) *Gomberg* und *Cone, Liebig*s Annalen. **376**. 194 (1910); *K. A. Hofmann* und Mitarbeiter, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **43**. 2624 (1910); **44**. 1766 (1911); siehe auch Die Alkaloidchemie in den Jahren 1907—1911 von *J. Schmidt*. Stuttgart 1911.

kräftigen Reaktion begleitet, deren Verlauf man unter tüchtigem Umschütteln abwartet, bevor man frische Substanz zugibt. Auf diese Weise kann man die Temperatur leicht zwischen 10 und 15° halten. Ist die Säure (nach Zusatz von etwa 100 *g*) mit Phenylmethylpyrazolon gesättigt, so beginnt eine reichliche Kristallisation. Doch kann man bei häufigem Umschütteln unbeschadet weiter Phenylmethylpyrazolon zugeben und so



Fig. 17. Arekolin-Trinitrophloroglucin.

Fig. 18. Hordenin-Trinitrothymol.

Fig. 19. Koniin Dinitro-Anthrachrysondisulfosäure.

Fig. 20. Hydrastininchlorhydrat-Trinitrophenol. Fällung am Uhrglas.

mit 600 *cm*³ HNO_3 von 90% ca. 200 *g* Phenylmethylpyrazolon nitrieren. Die Kristallmasse wird von der Mutterlauge durch Absaugen über Glaswolle befreit, zuerst mit schwächerer Salpetersäure und dann mit Wasser nachgewaschen, bis das Waschwasser keine saure Reaktion mehr zeigt. Man erhält so das Trinitrophenylmethylpyrazolon in groben würfelartigen Kristallen von gelbbrauner Farbe. Das fein zerriebene Rohprodukt wird

zum Zwecke der Verseifung mit der sechsfachen Menge 33%iger Essigsäure auf dem Wasserbade unter fortwährendem Umschütteln bis auf 60° erwärmt. Die in der Flüssigkeit suspendierten gelbbraunen Kristalle färben sich nach und nach gelbgrünlich und das Rohprodukt verschwindet, während eine flockige Kristallmenge die ganze Flüssigkeit erfüllt. Nach 20 bis 40 Minuten ist die Verseifung vollendet. Man läßt die Reaktionsmasse erkalten, filtriert und wäscht mit Wasser aus. Die Reinigung der erhaltenen rohen Pikrolonsäure geschieht durch das Natriumsalz. Das Verseifungspro-

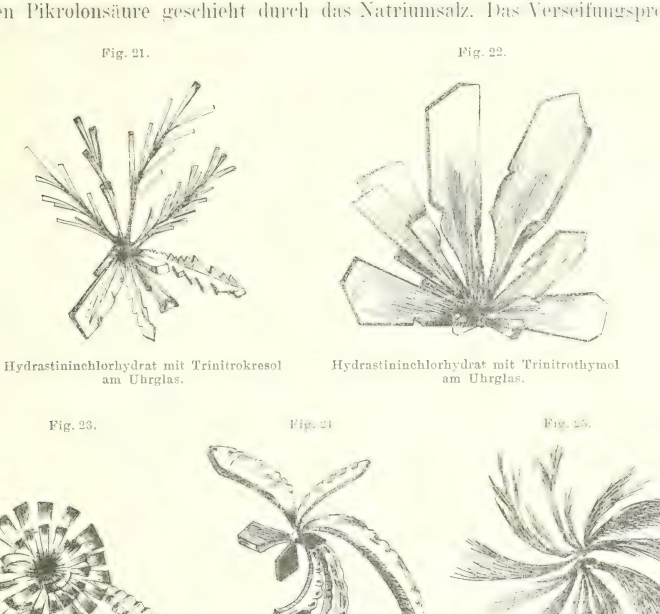


Fig. 21. Hydrastininchlorhydrat mit Trinitrokresol am Uhrglas.

Fig. 22. Hydrastininchlorhydrat mit Trinitrothymol am Uhrglas.

Fig. 23. Hydrastininchlorhydrat mit Trinitroresorzin am Uhrglas.

Fig. 24. Hydrastininchlorhydrat mit Trinitrophloroglucin am Uhrglas.

Fig. 25. Hydrastininchlorhydrat mit Dinitro-Anthrachrysondisulfosäure am Uhrglas.

dukt wird in Sodalösung zerrieben. Die Pikrolonsäure wandelt sich unter Entwicklung von Kohlensäure sofort in das gelbe Natriumsalz um; ist alles umgesetzt, so preßt man die Mutterlauge von den Kristallen ab. Aus verdünntem Alkohol 1 : 3 läßt sich das Salz gut umkristallisieren. Man erhält es in feinen gelben Nädelchen, die konzentrisch gruppiert sind. Das Natriumsalz läßt sich leicht zerlegen, wenn man es mit 20%iger HCl erwärmt. Die Pikrolonsäure scheidet sich als gelbes mehliges Pulver ab, das man nach dem Absaugen tüchtig mit Wasser nachwäscht.

	m-Nitrophenol	p-Nitrophenol	Dinitro-phenol	Dinitro-kresol	Dinitro-naphtol	Dinitronaphtol-sulfosäure	Dinitroanthra-chrysondisulfosäure	Trinitrophenol
Akonitin	2.000—2.500	1.400—1.500	—	—	—	100—150	400—500	1.900—2.000
Alypin	1.800—1.900	1.400—1.500	—	—	—	100—150	2.500—3.000	5.000—6.000*
Antipyrin	200—250	150—200	—	—	—	—	—	300—350*
Arekolin	—	—	—	—	—	—	—	—
Atropin	—	—	—	—	—	—	250—300	300—400*
Berberin	21.000—22.000	20.000—21.000	700—800	200—250	—	900—1.000	1.500—1.600	19.000—20.000
Bruzin	2.500—3.000	1.900—2.000	—	—	—	6.000—7.000	1.400—1.500	5.000—6.000
Chinidin	1.500—1.600	1.500—1.600	100—150	300—350	500—600	2.000—2.500	6.000—7.000	40.000—45.000
Chinin	2.000—2.500	2.000—2.500	200—250	500—600	500—600	2.000—2.500	6.000—7.000	50.000—55.000
Cinchonin	3.000—3.500	2.000—2.500	100—150	250—300	400—450	1.900—2.000	6.000—7.000	50.000—55.000
Dionin	—	—	—	—	—	—	450—500	900—1.000
Emetin	9.000—10.000	2.500—3.000	—	500—600	—	2.000—2.500	4.500—5.000	21.000—22.000
Eukain	500—600	300—350	—	—	—	400—450	2.000—2.500	3.000—3.500
Eumydrin	—	—	—	—	—	—	800—900*	200—250
Euporphin	2.000—2.500	900—1.000	—	—	—	1.100—1.200	2.000—2.500	6.000—7.000
Heroin	—	—	—	—	—	150—200	900—1.000	1.900—2.000
Hydrastin	—	—	—	—	—	1.000—1.100	4.500—5.000	10.000—11.000
Hydrastinin	400—500	250—300	—	—	—	—	700—800*	600—700*
Kodein	—	—	—	—	—	—	450—500	600—700
Koffein	—	—	—	—	—	—	—	—
Kokain	700—800	300—350	—	—	—	—	1.400—1.500	1.400—1.500
Kolchizin	1.100—1.200	1.000—1.100	—	—	—	—	—	—
Koniin	—	—	—	—	—	—	9.000—11.000*	—
Morphin	—	—	—	—	—	—	200—250	300—350
Nikotin	—	—	—	—	—	—	900—1.000	3.000—4.000*
Novokain	—	—	—	—	—	—	700—800	1.400—1.500*
Pelletierin	—	—	—	—	—	450—500	900—1.000	1.000—1.100
Pilokarpin	—	—	—	—	—	—	450—500	700—800*
Stovain	200—250	100—150	—	—	—	—	1.400—1.500	1.100—1.200*
Strychnin	2.000—2.500*	1.400—1.500	100—150	100—150*	100—150	800—900	3.000—3.500	9.000—10.000
Veratrin	2.000—2.500	1.300—1.400	—	—	—	800—900	1.400—1.500	2.500—3.000

	Trinitrokresol	Trinitrothymol	Trinitroresorzin	Trinitrophloro-gluzin	Trinitronaphtol	Tetranitrophenol-phtalein	Hexanitro-diphenylamin
Akonitin	1.400—1.500	2.000—2.500	1.400—1.500	2.000—2.500	500—600	1.900—2.000	4.500—5.000
Alypin	2.500—3.000*	4.000—4.500	2.500—3.000	4.000—4.500	1.400—1.500	900—1.000	2.000—2.100
Antipyrin	200—250*	300—350*	1 : 200	400—450*	—	—	—
Arekolin	—	—	—	1 : 200*	—	150—200	6.000—6.500
Atropin	350—400*	600—700*	250—300	350—400	150—200	900—1.000	40.000—45.000
Berberin	17.000—18.000	19.000—20.000	19.000—20.000	19.000—20.000	14.000—15.000	22.000—23.000	5.000—6.000
Bruzin	5.000—6.000	10.000—11.000	5.000—6.000	5.000—6.000	5.000—6.000	5.000—6.000	20.000—21.000
Chinidin	40.000—45.000	45.000—50.000	35.000—40.000	35.000—40.000	24.000—25.000	24.000—25.000	40.000—45.000
Chinin	50.000—55.000	50.000—55.000	30.000—35.000	35.000—40.000	30.000—35.000	19.000—20.000	25.000—30.000
Cinchonin	50.000—55.000	50.000—55.000	30.000—35.000	25.000—30.000*	7.000—8.000	10.000—11.000	30.000—35.000
Dionin	500—600	800—900*	400—500	600—700*	300—350	800—900	20.000—21.000
Emetin	20.000—21.000	24.000—25.000	19.000—20.000	19.000—20.000	12.000—13.000	9.000—10.000	10.000—11.000
Eukain	3.000—3.500	4.500—5.000	2.500—3.000	4.500—5.000	100—150	30.000—35.000	35.000—40.000
Eumydrin		150—200	100—150	300—350*	—	100—150	24.000—25.000
Euporphin	4.000—5.000	6.000—7.000	5.000—6.000	7.000—8.000	6.000—7.000	4.000—5.000	12.000—16.000
Heroin	1.400—1.500	1.900—2.000	1.400—1.500	1.900—2.000	1.900—2.000	2.500—3.000	25.000—30.000
Hydrastin	900—1.000	11.000—12.000	8.000—9.000	8.000—9.000	6.000—7.000	4.000—5.000	13.000—14.000
Hydrastinin	250—300*	700—800*	450—500*	1.600—1.700*	500—600	500—600	25.000—30.000
Kodein	450—500	500—600	400—500*	600—700	300—400	1.100—1.200	24.000—25.000
Koffein	—	—	—	—	—	—	—
Kokain	600—700	1.900—2.000	2.000—2.500*	2.000—2.500	800—900*	1.400—1.500	20.000—21.000
Kolchizin	—	—	—	—	—	800—900	2.500—30.000
Koniin	—	—	—	—	—	450—500	10.000—11.000
Morphin	200—250*	250—300*	200—250	9.000—10.000	5.000—6.000	11.000—12.000	40.000—45.000
Nikotin	1.800—1.900*	5.000—6.000*	2.500—3.000*	1.100—1.200*	900—1.000	1.200—1.300	50.000—55.000
Novokain	450—500	1.400—1.500	450—500	700—800*	300—400	1.100—1.200	30.000—35.000
Pelletierin	1.000—1.100	1.000—1.100	1.000—1.100	700—800*	—	800—900	50.000—55.000
Pilokarpin	700—800*	700—800*	700—800*	800—900*	500—600	900—1.000	30.000—35.000
Stovain	900—1.000*	1.100—1.200*	900—1.000*	3.000—4.000*	900—1.000	3.000—4.000	14.000—15.000*
Strychnin	8.000—9.000	10.000—11.000	6.000—7.000	250—300*	100—150	900—1.000	10.000—11.000
Veratrin	2.500—3.000	2.500—3.000	2.000—2.500	3.000—3.500	1.600—1.700	7.000—8.000	9.000—10.000

Kaliumquecksilberjodid (*Mayers* Reagens) gibt mit den meisten Alkaloiden weiße oder gelbliche, meist amorphe Niederschläge, die nach 24 Stunden deutlich kristallinisch werden. Besonders zum Nachweis von Nikotin und Koniin geeignet. 13·5 *g* HgJ und 49·8 *g* JK werden zu 1 *l* Wasser gelöst. Die für quantitative Zwecke verwendete *Mayer*sche Lösung ist eine $\frac{n}{20}$-Lösung und enthält 6·775 *g* $HgCl_2$ und 25 *g* KJ auf 1 *l*.

Aromatische Nitroverbindungen[1], besonders Nitrophenole, haben sich als Alkaloidfällungsmittel bewährt und geben manchmal so charakteristische Niederschläge, daß sie zur Identifizierung des Alkaloids dienen können, wie die Abbildungen aus der zitierten Originalarbeit beweisen (Fig. 14—25). In den weitaus meisten Fällen erfolgen die Niederschläge sofort. In der vorstehenden der genannten Arbeit entnommenen Tabelle sind die Fällungsgrenzen durch zwei Zahlenwerte bestimmt, von welchen die kleinere den Verdünnungsgrad anzeigt, bei welchem innerhalb einer Minute noch eine deutlich sichtbare Fällung eintrat, während die größere Zahl die Verdünnung anzeigt, bei welcher keine Reaktion mehr erfolgt. Eintretende Kristallbildung ist durch einen Stern bezeichnet.

Zur Identifizierung eines Alkaloids können die Farbenreaktionen mitunter viel beitragen, da manche von ihnen für bestimmte Alkaloide charakteristisch sind. Sie sind ferner ebenso empfindlich wie die Fällungsreaktionen, können also mit Vorteil auch zu ersten orientierenden Untersuchungen auf die Anwesenheit von Alkaloid verwendet werden. Diese Reagenzien bestehen entweder aus reiner konzentrierter Schwefelsäure oder einer Schwefelsäure, der etwas Salpetersäure (*Erdmanns* Reagens), Molybdänsäure (*Fröhdes* Reagens), Kaliumbichromat heiß gelöst (*Luchinis* Reagens) oder Kaliumpermanganat 1:200 (*Wenzells* Reagens) zugefügt worden ist. Häufig muß die Reaktion bei Wasserbadwärme ausgeführt werden, man nimmt sie dann in einem flachen Porzellanschälchen vor; ist das nicht der Fall, so kann man Porzellanplatten mit seichten Vertiefungen verwenden, wie sie zum Anreiben von Malerfarben dienen. Hier ist es ebenso wie bei den Fällungsreaktionen wichtig, daß man mit kleinen Quantitäten und bei reichlichem Luftzutritt, also in flachen Schalen oder Uhrgläschen arbeitet.

Um eine Fällungsreaktion durchzuführen, versetzt man den Verdampfungsrückstand der auf Alkaloide zu prüfenden Flüssigkeit oder des Extraktes mit einigen Tropfen Schwefelsäure 1:50[2]) und bringt durch gelindes Erwärmen zur Lösung. Ein Tröpfchen dieser Lösung wird mittelst Glasstabes auf ein flaches Uhrglas gebracht, das auf schwarzes Glanzpapier gestellt wurde. Nun bringt man gleichfalls mit einem Glasstab einen Tropfen des Fällungsreagens an den Rand der Uhrschale und läßt durch vorsichtiges Neigen zusammenfließen. An der Berührungsstelle der Flüssigkeiten entsteht bei Anwesenheit des Alkaloids eine Fällung.

---

[1]) *Rosenthaler* und *Görner*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **49**. 340 (1910).

[2]) S. a. *J. Gadamer*, Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittelung der Gifte. Göttingen 1909.

Zur Ausführung der Farbenreaktion wird die gepulverte Substanz oder eine (alkoholische oder ätherische) Lösung derselben in die Uhrschale gebracht, in letzterem Fall das Lösungsmittel völlig zum Verdunsten gebracht und nun mit dem Glasstab ein Tropfen des Reagens dazugebracht. Sofort oder nach einiger Zeit, eventuell beim Erwärmen entsteht die Farbe, deren Nuance natürlich abgesehen von subjektiven Momenten von der Menge des Alkaloids abhängig ist, so daß ein genaues Festhalten der Zeit und der begleitenden Momente, eventuell Parallelreaktionen mit dem reinen Alkaloid und schließlich die Prüfung des Absorptionsspektrums zur größeren Sicherheit notwendig ist. Die folgende Tabelle gibt die entstehenden Färbungen wieder.

Fröhdes Reagens wird zweckmäßig zuerst angewendet, denn wenn hier sich ein negatives Resultat ergibt, reagieren auch *Erdmanns* Reagens und reine Schwefelsäure nicht. Mit *Fröhdes*, *Erdmanns* Reagens und mit Schwefelsäure reagieren nicht: Atropin, Chinin, Cinchonin, Kokain Koffein, Koniin, Hyoscyamin, Nikotin, Pilokarpin, Piperidin, Pyridin, Skopolamin, Spartein, Strychnin, Theobromin. Beim Betupfen mit konz. HNO_3 wird Berberin rotbraun, Bruzin rot, orange, gelb, Colchicin violett, braungelb, Kurarin purpurrot, Emetin orange, gelb, Hydrastin rötlich, gelb, braungelb, Morphin blutrot, braun, gelb, Papaverin rot, gelb, orange, Akonitin, Kodein, Hydrastinin, Narzin, Narkotin, Nikotin, Strychnin, Thebain, Veratrin, Yohimbin gelb, Atropin, Chinin, Cinchonin, Kokain, Koffein, Cytisin, Hyoscyamin, Solanin, Spartein, Theobromin bleiben farblos.

Um ein Objekt auf die enthaltenen Alkaloide zu prüfen muß man diese erst extrahieren. Man zieht auf schwach siedendem Wasserbad nach *Dragendorff* wiederholt mit Wasser aus, dem auf je 100 cm^3 10 cm^3 verdünnte Schwefelsäure 1 : 5 zugesetzt wurde. Kolchizin, Solanin und Digitalin können auch schon durch gelinde Wärme zersetzt werden, in diesem Falle ist die Extraktion in der Kälte vorzunehmen.

Die Auszüge werden filtriert, die freie Säure bis zur schwach sauren Reaktion mit Magnesia neutralisiert und dann im luftverdünnten Raum am Wasserbad bis zum Sirup eingedampft. Der Rückstand wird mit dem vierfachen Volumen Alkohol und etwas verdünnter Schwefelsäure 24 Stunden bei 30—40° unter öfterem Digerieren gehalten. Nach dem Erkalten wird filtriert, der Rückstand mit Alkohol gewaschen, der Alkohol der Extrakte verdunstet und der wässerige Rückstand im Kolben bei 30—40° mit Petroläther unter häufigem Schütteln digeriert, um färbende Bestandteile zu entfernen. Ist Piperin anwesend, welches vom Petroläther aufgenommen wird, dann muß die petrolätherische Lösung im Scheidetrichter abgehoben und das Alkaloid durch Verdunsten des Petroläthers gewonnen werden. Die entfärbte wässerige Alkaloidlösung wird nun längere Zeit bei 40° mit Benzol digeriert, was mit frischen Mengen Benzol einige Male wiederholt werden muß. Dann werden die Benzolauszüge vereinigt, das Benzol verdunstet. Im Rückstand kann vorhanden sein: Kolchizin, Digitalin, Spuren von Veratrin, farblose Nadeln deuten auf Koffein, ein gelb gefärbter Rück-

	Wenzells Reagens	*Luchinis* Reagens	*Erdmanns* Reagens	Reine Schwefelsäure	*Fröhdes* Reagens
Akonitin . .	amethystfarbig, dann blutrot, schließlich brauner Niederschlag	—	gelb	gelb	gelb
Atropin . . .	Amethystfarbe, später violett, schließlich ziegelroter Niederschlag	—	—	—	—
Apomorphin .	—	—	farblos	farblos	schmutziggrün, allmählich blau
Berberin . .	—	—	olivgrün, dann gelbbraun	olivgrün, bald gelb	braungrün
Bruzin . . .	rosenrot, dann amethystfarbig, später karminrot, zuletzt farblos	hellrot, dann grün	blutrot, allmählich abblassend	farblos	rot, allmählich gelb
Chelidonin . .	—	—	grün	nacheinander grünlichgelb, bräunlich, kirschrot, violett	gelbgrün, blaugrün
Chinin . . .	Amethystfarbe, hellrot werdend, nach 24 Stunden noch violett. Zusatz von einem Tropfen HNO_3 färbt dunkler	strohgelb	—	—	—
Cytisin . . .	—	—	orangegelb, dann gelbbr.	farblos	farblos
Digitalin . .	rotbraune, dann lachsfarbige und zuletzt schmutziggelbe Fällung	gelbe Ausscheid.; n. 24 Stunden weißer Niederschlag u. grüngelbe Flüssigkeit	—	—	—
Emetin . . .	—	—	grün	braungrün	rot, dann blaugrün
Euporphin . .	—	—	fast farblos, beim Erwärmen über schmutzigviolett braungrün	farblos, b. Erwärmen braungrün	dunkelgrün
Hydrastin . .	—	—	gelb	farblos, b. Erwärmen violett	Grün, allmählich braun
Hydrastinin .	—	—	gelb, beim Erwärmen bräunlich	gelblich, blau fluoreszierend, b. Erwärmen bräunlich	intensiv gelb, b. Erwärmen dunkelbraun
Koffein . . .	amethystfarbig, dunkelviolett, blutroter Niederschlag, d. nach 24 Stunden braun wird	nach 24 Stunden dunkelgrün	—	—	—
Kodein . . .	—	—	farblos, beim Erwärmen blau	farblos, b. Erwärmen schwach rötlich, bläulich	gelbgrün, allmählich blau
Kolchizin . .	aufeinanderfolgend: rot, karmingelbgrün, gelb, farblos	dunkelgelb nach 24 Stunden	violett, schnell gelb	gelb	violett, schnell gelb

Kotarnin . .	—	—	gelb, beim Erwärmen schmutzigrot	gelblich, b. Erwärmen rötl., schnell mißfarben	gelbgrün, dann dunkelgrün, zuletzt schmutzighimbeerrot
Kurarin . . .	—	—	—	schmutzigbraun	—
Lobeliin . .	—	—	gelblich, dann rot	gelblich, rötlich	braun, dann grün
Morphin . .	rubinrot, beim Bewegen gelblich, nach 24 Stunden verschwindend	keine Reaktion, nach 24 Stunden gelbgrün, dann hellgrün	farblos, beim Erwärmen rötlichgelb	schwach rosa	violett, dann blau, schmutziggrün, gelb, blaßrosa
Morphosan .	—	—	farblos, beim Erwärmen bräunlich	farblos, b. Erwärmen schmutzigbraungrün	schön violett, aber schnell schmutziggrünbraun
Narzein . . .	rubinrot, beim Bewegen gelblich, nach 24 Stunden noch vorhanden	keine Reaktion, später gelbgrün, grün und nach 24 Stunden blau	braun, vom Rande violett, schmutzigrot	gelb, beim Erwärmen blutrot	dunkelolivgrün, b. Erwärmen rötlichbraun, blutrot, v. Rande blau
Narkotin . .	—	—	rot, allmählich intensiver, beim Erwärmen kirschrot	grünlichgelb, gelbrot, vom Rande blauviolett, purpur, violett b. Erwärmen orange	blaugrün, grünrötlich, gelb
Oxydimorphin	—	—	braunrot, braun	farblos	blau, dann violett
Papaverin . .	—	—	dunkelrot	farblos, bei längerem Erwärmen schwach blauviolett	grün, beim Erwärmen blau
Peronin . . .	—	—	rötlichgelb, beim Erwärmen rot	rötlichgelb, beim Erwärmen braunrot	rotviolett, blaugrün
Protopin . .	—	—	orangeviolett, vom Rande her grün	blauviolett	vorübergehend violett, grün, tiefblau, schön grün
Physostigmin .	—	—	schwach rötlichgelb	farblos	schwach rötlichgelb
Solanin . . .	—	—	orange, b. Erwärmen schmutzigviolett, braunrot	wie vorher	wie vorher
Strychnin . .	amethystfarbig, allmählich Entfärbung unter Absatz eines weißen Niederschlages	keine Reaktion, nach 24 Stunden orangegelb, Ausscheidung von Kristallsternen	—	—	—
Thebain . . .	—	—	blutrot	allmählich gelbrot	—
Veratrin . . .	hellrot, dann hefefarbig, nach 24 Stunden orange Niederschlag	kanariengelber, auf der Oberfläche schwimmender Niederschlag	gelb, bald orange	grün fluoreszierend	rot, karminrot
Yohimbin . .	—	—	allmählich rötlich	farblos	intensiv blaß, vom Rande grün

stand zeigt Kolchizin an. Schüttelt man den Rückstand mit Amylalkohol aus, so gehen Pikrotoxin, Salizin und Narkotin (teilweise) in Lösung. Die saure wässerige Lösung wird nach dem Ausschütteln mit Amylalkohol mit Chloroform ausgeschüttelt; dabei gehen Papaverin, Thebain und ein Teil von Bruzin und Narzein in Lösung. Ein kristallinischer Rückstand nach Verdunsten des Chloroforms deutet auf Papaverin oder Bruzin. Nach dem Extrahieren mit Chloroform wird die wässerige Lösung nach Erwärmen auf 40° mit Petroläther überschichtet, dann mit Ammoniak im Überschuß behandelt. Strychnin, Brucin, Chinin, Koniin, Nikotin, Papaverin werden dadurch extrahiert und bleiben nach dem Verdunsten des Lösungsmittels zurück. Koniin und Nikotin, welche einen charakteristischen Geruch besitzen, gehen mit Wasser in Lösung. Beim Erkalten der warmen Petrolätherlösung scheidet sich Chinin in Kristallen aus, ebenso Strychnin und Papaverin, wenn sie in größerer Quantität zugegen sind, amorph Bruzin und Veratrin. Wenn der trockene Alkaloidrückstand mit absolutem Äther behandelt wird, gehen Chinin, Papaverin und Veratrin in Lösung. Behandelt man mit absolutem Alkohol, so bleiben Strychnin und Bruzin zurück, welche in demselben schwer löslich sind.

Die ammoniakalische, wässerige Alkaloidlösung bei 40—50° mit Benzol behandelt, läßt Chinidin, Cinchonin, Atropin, Akonitin und Kodein in Lösung gehen.

Beim Verdunsten des Lösungsmittels scheiden sich Cinchonin, Atropin, Chinidin, Kodein kristallinisch, Akonitin amorph aus.

Nach der Extraktion mit Benzol wird die wässerige ammoniakalische Lösung mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, auf 50—60° erwärmt, mit Amylalkohol überschichtet, mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht und mit dem Amylalkohol durchgeschüttelt. Morphin, Solanin und Narzein (teilweise) werden gelöst und scheiden sich beim Verdunsten der Lösung aus, und zwar Morphin kristallinisch, Solanin schon beim Erkalten als Gallerte. Der Rest des Narzeins scheidet sich ab, wenn die Lösung zur Trockne gebracht wird und kann aus Alkohol oder Wasser umkristallisiert werden.

Qualitative Bestimmung der einzelnen Alkaloide.

Atropin: Die Erkennung erfolgt am sichersten durch den physiologischen Versuch. Die aus dem betreffenden Objekt isolierte und sorgfältig gereinigte Base wird in schwach angesäuertem Wasser gelöst, so daß die Lösung kaum sauer ist und ein Tropfen davon in den Konjunktivalsack des gesunden Menschen oder Katzenauges gebracht; noch 0·0002 *mg* Atropin wirken deutlich mydriatisch (die Pupille erweiternd). Eine kleine Quantität, etwa 1 *mg*, wird in einer trockenen Eprouvette erhitzt, bis weiße Dämpfe aufsteigen und mit 1·5 cm^3 konzentrierter H_2SO_4 versetzt; beim Erwärmen tritt Bräunung ein, nun werden sehr allmählich unter Umschütteln 2 cm^3 Wasser zugesetzt, wobei ein angenehmer Geruch auftritt, der an den Duft von Orangenblüten erinnert; wirft man nun ein Kriställchen von Kaliumpermanganat hinein, so geht der Geruch in Bittermandelölgeruch über.

Nach *Vitali* entsteht sofort eine Rotviolettfärbung, wenn man die kleine Quantität Atropin mit 5 Tropfen rauchender Salpetersäure verrührt, auf dem Wasserbade zur Trockne bringt und den gelben Rückstand nach dem Erkalten mit einem Tropfen einer alkoholischen Ätzkalilösung 1 : 10 betupft.

Goldchlorid erzeugt in der wässerigen Lösung eines Atropinsalzes einen gelben Niederschlag, der sehr schwer löslich und gut kristallisierbar ist. Mit Hilfe der Goldsalze lassen sich auch die mydriatischen Basen Atropin, Hyoszyamin, Skopolamin voneinander unterscheiden.

Der mit einem geringen Überschuß von Goldchlorid entstandene Niederschlag löst sich beim Erwärmen auf und scheidet sich beim Erkalten wieder aus, und zwar bei:

Atropin ölig, allmählich erstarrend, Schmelzpunkt der glanzlosen Kristale 135—137°.

Hyoszyamin sofort kristallinische Blättchen, stark glänzend, Schmelzpunkt 160—162°.

Skopolamin sofort kristallinisch, mikroskopische federbartartige Kristalle, Schmelzpunkt 210—214°.

Chinin: Die wässerige Lösung reagiert sauer und zeigt im auffallenden Lichte blaue Fluoreszenz, die nur in saurer Lösung auftritt und sich in neutraler Lösung zeigt, wenn man Weinsäure, Phosphorsäure etc., nicht aber Halogenwasserstoffsäure zusetzt, die vielmehr die Fluoreszenz aufheben.

Versetzt man eine alkoholische Chininlösung mit einer Mischung aus einem Teil Jod, gelöst in 1 Teil 50%iger Jodwasserstoffsäure und 50 Teilen 70%igem Alkohol und 0·8 Teilen Schwefelsäure und läßt kurze Zeit stehen, so entsteht eine in metallglänzenden Blättchen kristallisierende Substanz, die im durchfallenden Lichte blaß olivgrün, im auffallenden schön dunkelgrün aussieht und das Licht stark polarisiert (Herapathitreaktion).

Gibt man zu 5 Teilen der Chininlösung (ca. 1 : 200) 1 Teil Chlorwasser und unmittelbar darauf Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion, so wird die Lösung smaragdgrün, bei eben eingetretener Neutralisation blau und beim Übersättigen mit Säuren violett bis feuerrot (Thalleiochinreaktion).

Zu 10 cm^3 der schwach angesäuerten Chininlösung wird je 1 Tropfen Bromwasser, Ferrocyankali 1 : 10 und 10%iger Ammoniak hinzugefügt. Schüttelt man nunmehr mit Chloroform, so tritt noch bei einer Verdünnung 1 : 1 Million deutliche Rotfärbung ein (Erythrochininreaktion).

Beim Cinchonin treten die genannten Reaktionen nicht ein, mit Chlorwasser und Ammoniak entsteht ein weißer Niederschlag. In Äther ist es zum Unterschied von Chinin schwer löslich, worauf eine Methode beruht, die beiden zu trennen.

Morphin: Versetzt man eine Lösung des Alkaloids in konzentrierter H_2SO_4 mit einem Körnchen KNO_3 und erwärmt bis weiße Dämpfe auftreten, so entsteht eine rötliche Färbung. Läßt man nun erkalten und

fügt noch ein Körnchen KNO_3 hinzu, so entsteht eine rotviolette Färbung, die schnell in Blutrot übergeht und sehr bald verblaßt (*Husemanns* Reaktion).

Dampft man die trockene Substanz mit trockener Salzsäure unter Zufügung von wenig konzentrierter H_2SO_4 bei 100—120° ein, so erhält man einen roten Rückstand; wird nun wieder etwas HCl hinzugefügt, mit $NaHCO_3$ neutralisiert, so erhält man eine violette Färbung. Gibt man dann zu dieser Flüssigkeit einige Tropfen einer konzentrierten Lösung von Jod in Jodwasserstoffsäure unter Vermeidung eines Überschusses, so geht das Rot in Smaragdgrün über und beim Schütteln mit Äther wird der Äther rot, während die wässerige Flüssigkeit grau bleibt (*Pellagris* Reaktion).

Versetzt man eine kleine Menge Morphin in der Porzellanschale mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, der etwas Salpetersäure zugefügt wurde, so entsteht eine schwach rosarote Lösung, die beim Erwärmen auf dem Wasserbade nach dem Erkalten blutrot wird.

Koniin: Einige Tropfen einer Lösung von 1 *g* $KMnO_4$ in 200 *g* konzentrierter H_2SO_4 mit Koniin verrührt, liefert eine beständige violette Färbung, die sich von der anfänglichen grünen Lösung gut unterscheidet.

Nikotin: mit Pikrolonsäure charakteristische, zu Büscheln vereinigte Nadeln, die bei 213° schmelzen. Eine ätherische Nikotinlösung mit dem gleichen Quantum ätherischer Jodlösung versetzt, gibt eine Trübung oder einen Niederschlag und nach einiger Zeit lange rote Kristallnadeln, die das Licht mit blauer Farbe reflektieren (*Roussins* Kristalle). Auch hier ist das physiologische Experiment den rein chemischen vorzuziehen. Ein Frosch, dem eine minimale Menge Nikotin injiziert wird, schlägt unter Muskelzuckungen die vorderen Extremitäten nach rückwärts, so daß sich die Fußwurzeln am Becken berühren, während die Oberschenkel rechtwinklig vom Körper wegstehen.

Strychnin: erzeugt in minimalen Dosen beim Frosch oder einer weißen Maus unter die Haut gespritzt tetanische Krämpfe. Löst man zirka 0·1 *g* unter Aufkochen in 5 cm^3 Wasser und setzt einige Tropfen $K_2Cr_2O_7$-Lösung zu, bis die Lösung orangegelb ist und läßt abkühlen, so fällt ein feiner goldgelber Niederschlag. Dieser wird abfiltriert und davon mit einem Glasstab etwas auf ein Uhrglas gebracht, auf das früher wenig konzentrierte H_2SO_4 getropft worden war. Streicht man mit der am Glasstab befindlichen Strychninverbindung durch die Schwefelsäure, so entstehen violette Wegspuren. Man kann auch die auf Strychnin zu prüfende Substanz auf der Uhrschale in Schwefelsäure lösen und ein Körnchen Kaliumbichromat mit dem Glasstab durch die Lösung schieben, wobei sich die blauvioletten Wegspuren zeigen, die aber bald abblassen.

Quantitative Bestimmung.

Bestimmung mit Kaliumquecksilberjodid nach *Heikel*.[1]) Dieses sogenannte *Mayer*sche Reagens hat sich für die quantitative Al-

[1]) *G. Heikel*, Chemiker-Zeitung, 32, 1149, 1162, 1186, 1212 (1908).

kaloidermittlung bewährt und wird zu diesem Zweck als $\frac{1}{20}$ Normallösung mit 6·775 *g* $HgCl_2$ und 25 *g* KJ auf 1 *l* verwendet. Aus der Menge des Reagens, welche zu der Alkaloidlösung zufließen gelassen werden muß, bis vollständige Fällung erfolgt ist, kann die Menge des Alkaloids berechnet werden. Um diesen Zeitpunkt zu bestimmen, muß man von der Fällung abfiltrieren und von neuem fällen; tritt kein Niederschlag mehr ein, dann ist die Titration beendigt. Natürlich ist diese Methode sehr ungenau und es bietet wesentliche Vorteile, einen Überschuß des Reagens hinzuzufügen und das in der Lösung gebliebene Quecksilber zurückzutitrieren. Dadurch wird nicht nur die mit dem Alkaloid in Verbindung getretene Quecksilbermenge genauer bestimmt, sondern es fällt auch das Filtrieren fort, wodurch erheblich Zeit gespart wird. *Heikel* hat mittelst dieser Restmethode die Anzahl Kubikzentimeter des *Mayer*schen Reagens bestimmt, die mit 0·1 *g* eines Alkaloids reagieren.

Zu diesem Zweck wird das überschüssige Quecksilber des Reagens durch eine Cyankalilösung bestimmten Gehaltes in das undissoziierte und daher reaktionsunfähige Quecksilbercyanid übergeführt und der Überschuß dieser Cyankalilösung durch Silbernitrat festgestellt. Die Cyankalilösung ist so eingestellt, daß ein bestimmtes Volumen derselben mit 10 *cm*³ 10%igen Ammoniak und einigen Tropfen Jodkalilösung als Indikator das gleiche Volumen $\frac{n}{20}$-$AgNO_3$-Lösung erfordert, um die erste bleibende Trübung von Silbercyanid zu erzielen.

Aus der Gleichung $HgCl_2 + 2\,KCN = Hg(CN)_2 + 2\,KCl$ ergibt sich, daß 0·010 *g* Hg = 2·0 *cm*³ $\frac{n}{20}$ *Mayer*scher Lösung mit 0·0065 *g* KCN = 1·0 *cm*³ $\frac{n}{20}$-KCN-Lösung reagiert. Wird die zugefügte Anzahl $\frac{n}{20}$-KCN-Lösung mit K, die verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{20}$-$AgNO_3$-Lösung mit A und die Anzahl von Kubikzentimeter des *Mayer*schen Reagens mit M bezeichnet, so besteht zwischen den drei Lösungen die Beziehung $M = 2\,(K - A)$.

Angenommen, es wären von dem Alkaloid 0·1 *g* in je 10 *cm*³ Wasser gelöst, 10 *cm*³ n H_2SO_4 werden zugefügt, man setzt einen Überschuß des *Mayer*schen Reagens (nicht unter 15 *cm*³) zu der abgemessenen Menge der Alkaloidlösung (5—20 *cm*³) zu, verdünnt auf 100 *cm*³, schüttelt gut durch (ein reichliches Durchschütteln ist nötig, weil besonders bei größerer Verdünnung der Niederschlag häufig kolloidal ausfällt und durchs Filter geht, bei gründlicher Koagulation erhält man aber klare Filtrate) und filtriert durch ein trockenes Filter in ein trockenes Gefäß. Zu 80 *cm*³ der filtrierten Lösung gibt man 10 *cm*³ 10%iges Ammoniak und eine bestimmte Menge (meist 10 *cm*³) genau eingestellter $\frac{n}{20}$-KCN-Lösung. Unter Umrühren werden dann $\frac{n}{20}$ $AgNO_3$-Lösung bis zur bleibenden Trübung zugelassen. Die nachfolgende Tabelle zeigt das Verhalten der einzelnen geprüften Alkaloide:

	cm^3 Reagens erforderlich für 0·100 g Alkaloid	1 cm^3 Reagens entspricht Gramm Alkaloid	Fehlergrenze Prozent	Bemerkungen
Akonitin . .	6·3	0·0159	± 5	
Atropin . . .	10·8	0·0093	± 2	
Berberin . . .	10·9	0·0092	± 10	Bei starken Verdünnungen ergeben 10 cm^3 Reagens auf 0·1 g nahezu genaue Resultate.
Bruzin . . .	8·9	0·0112	± 12	
Chinin . . .	11·2	0·00895	± 2	
Chinidin . . .	19·5	0·00514	± 10	
Cinchonin . .	11·5	0·0087	± 5	
Cinchonidin .	19·5	0·00514	± 10	Bei starken Verdünnungen ergeben 13·2 cm^3 Reagens auf 0·1 g fast genaue Resultate.
Cokain . . .	12·2	0·0082	± 7	
Colchizin . .	6·95	0·00144	± 2	
Heroin . . .	8·2	0·00122	± 7	
Hydrastin . .	8·6	0·00116	± 2	Die Endverdünnung darf 1 : 1000 nicht überschreiten.
Hyoszyamin .	10·8	0·0093	± 2	
Ipecac. Alkaloide	11·2	0·00895	± 3	
Morphin . . .	9·6	0·0104	± 5	Die Endverdünnung darf 1 : 1000 nicht überschreiten; bei starker Verdünnung ergeben 7 cm^3 Reagens auf 0·100 g fast genaue Resultate.
Physostigmin .	11·9	0·0811	± 2	Großer Überschuß an Reagens erforderlich.
Pilokarpin . .	13·1	0·00765	± 9	
Spartein . . .	34·2	0·00293	± 3	
Strychnin . .	12	0·00835	± 2	
Veratrin . . .	5·2	0·0192	± 4	

Bezüglich der Einzeldurchführungen muß auf die Originalarbeit verwiesen werden.

Die Pikrolonsäure als Mittel zur quantitativen Alkaloidbestimmung.[1]) Die Schwerlöslichkeit der Pikrolonate von Styptizin, Kodein, Morphin, Koniin, Strychnin, Bruzin, Atropin etc. kann zur quantitativen Ausmittelung dieser Alkaloide benutzt werden. Hat man z. B. das betreffende Alkaloid in einer Tablette oder Verreibung mit Zucker, so wird diese in möglichst wenig Wasser gelöst und mit einem geringen Überschuß einer zirka $\frac{n}{10}$ alkoholischen Pikrolonsäurelösung versetzt. Das Pikrolonat scheidet sich entweder sofort oder nach einiger Zeit als Kristallmehl oder in gelben Nadeln ab. Nachdem man den Niederschlag 15 Stunden bei 10—15° hat stehen lassen, sammelt man ihn auf einem mit Asbest belegten Goochtiegel, saugt scharf ab, wäscht mit möglichst wenig Wasser nach, trocknet eine halbe Stunde bei 110° und wägt. Aus dem Gewichte des Prikolonates läßt sich die Menge der Base berechnen, der Schmelzresp. Zersetzungspunkt des Salzes bürgt für seine Reinheit und Identität.

[1]) *H. Matthes* und *O. Rammstedt,* Zeitschr. f. analyt. Chem. **46.** 565 (1907).

Die Alkaloidsalze lassen sich direkt in wässeriger Lösung fällen, ohne daß erst das Alkaloid mit Alkali in Freiheit gesetzt werden muß. Die umständliche Extraktion des Alkaloides mit Äther oder Chloroform fällt weg.

Das Kotarnin-Pikrolonat schmilzt unter Sintern und Bräunung bei 205—210°.

Das Kodein-Pikrolonat schmilzt bei ca. 225° unter Zersetzung.

Das Morphin-Pikrolonat schmilzt unter Sintern und Dunkelfärbung zwischen 200—210°.

0·0814 *g* Kotarnin-Pikrolonat entsprechen ($C_{12}H_{15}NO_4 . C_{10}H_8N_4O_5 = 501$) 0·0474 *g* Styptizin.

0·0267 *g* Kodein-Pikrolonat entsprechen ($C_{18}H_{21}NO_3 . C_{10}H_8N_4O_5 = 563$) 0·0205 *g* Codein. phosph.

0·0147 *g* Morphin-Pikrolonat entsprechen ($C_{17}H_{19}NO_3 . C_{10}H_8N_4O_5 = 549$) 0·0101 *g* Morphin hydrochl.

Warren und *Weiss*[1]) teilen mit, daß die Pikrolonsäure infolge Erzielung der schön kristallisierenden Pikrolonate, welche sehr schwer löslich sind, zur Charakterisierung der Alkaloide sehr geeignet sind und die Pikrate, mit denen sie sonst Ähnlichkeit besitzen, an Schwerlöslichkeit übertreffen. Die Verwendung des Fällungsmittels geschieht am besten in Form der gesättigten alkoholischen Lösung, in manchen Fällen der Lösung in Wasser, Benzol, Äther, Chloroform. Aus den Pikrolonaten lassen sich leicht die reinen Alkaloide gewinnen, indem man die Niederschläge mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt und die Pikrolonsäure durch Essigäther entfernt. Die Pikrolonate von Koniin, Nikotin, Strychnin, Bruzin, Morphin, Kodein, Atropin, Chinin, Hydrastin sind von den genannten Autoren studiert, beschrieben und in Mikrophotogrammen abgebildet worden. Das Alkaloid wird zweckmäßig durch Umkristallisieren der aus den wässerigen Lösungen erhaltenen Niederschläge aus Alkohol gereinigt. Kokain, Akonitin, Koffein geben keine typischen Niederschläge, für Bruzin und Kodein ist Pikrinsäure das schärfere Reagens, für Nikotin, Chinin, Atropin, Hydrastin ist die Empfindlichkeit gegen beide Fällungsmittel Pikrinsäure und Pikrolonsäure gleich, für Koniin, Strychnin und Morphin ist Pikrolonsäure das empfindlichere Reagens.

Die meisten der wichtigeren Alkaloide lassen sich sehr genau auf alkalimetrischem Wege unter Verwendung von Jodeosin als Indikator bestimmen (*Gadamer,* l. c. 498).

Ausführung: Der die Alkaloide enthaltende Organextrakt wird nach sorgfältiger Reinigung im tarierten Wägegläschen eingedunstet und über Schwefelsäure im Exsikkator bis zum konstanten Gewicht getrocknet und der Rückstand, resp. wenn es sich um flüchtige Basen handelt, dessen salzsaures Salz (über Ätzkali getrocknet) zur Wägung gebracht. Dieser Rückstand wird in einer bestimmten überschüssigen Menge $\frac{n}{10}$ oder

[1]) *W. H. Warren* und *R. S. Weiss,* Journ. of Biol. Chem. 3. 227 (1907).

$\frac{n}{100}$ Salz- oder Schwefelsäure gelöst und der Überschuß mit $\frac{n}{10}$ oder $\frac{n}{100}$ KOH zurücktitriert. Zu diesem Zweck wird eine etwa 250 *cm*³ fassende Flasche mit eingeriebenem Stöpsel aus weißem, alkaliarmem Glas mit zirka 50 *cm*³ Wasser und so viel Äther versetzt, daß die ätherische Schichte nach dem Umschütteln 1—1·5 *cm*³ hoch ist; dann wird nach Zusatz von 5 Tropfen ätherischer Jodeosinlösung umgeschüttelt. Ist nach Trennung der Schichten die wässerige Lösung rosa gefärbt, so reagiert die Flüssigkeit alkalisch; in diesem Falle gibt man $\frac{n}{100}$ H_2SO_4 in Zehntelkubikzentimetern so lange hinzu, bis die wässerige Lösung nach dem Umschütteln farblos und auch nach längerem Schütteln keine Rosafärbung auftritt, welche sich ergeben kann, wenn das Glas Alkali abgibt, was die Bestimmung unbrauchbar macht. Bleibt die Lösung farblos, dann gibt man 0·1 *cm*³ $\frac{n}{100}$ KOH hinzu. Die ursprüngliche Mischung ist gewöhnlich von vorneherein sauer, da der käufliche Äther sauer ist; in diesem Falle neutralisiert man zunächst durch $\frac{n}{100}$ KOH und macht dann erst die vorher angegebene mit $\frac{n}{100}$ Säure sauer. Nun wird zu dem Inhalt der Schüttelflasche die saure Alkaloidlösung zugegeben und umgeschüttelt. Nachdem die Rosafärbung verschwunden ist, fügt man $\frac{n}{100}$ KOH in Portionen zu ca. 1 *cm*³ hinzu, bis die wässerige Schichte nach kräftigem Umschütteln wieder deutlich rosa gefärbt ist. Jetzt ist natürlich ein Überschuß von Lauge bis zu 1 *cm*³ vorhanden, man gibt jetzt 1 *cm*³ $\frac{n}{100}$ Säure hinzu und dann in Portionen zu $\frac{1}{10}$ *cm*³ $\frac{n}{100}$ KOH, bis die wässerige Schichte dauernd schwach rosa gefärbt bleibt.

Die Berechnung der vorhandenen Alkaloidmenge erfolgt nach der Gleichung: Alk + HCl = Alk . HCl, wonach 1 Mol. HCl zur Neutralisation von 1 Mol. Alkaloid erforderlich ist. Es ist daher nur die Konzentration einer $\frac{n}{100}$ Alkaloidlösung zu ermitteln: $\frac{1}{100}$ Grammäquivalent in 1 *l* aufgelöst. 1 *cm*³ zur Neutralisation verbrauchter $\frac{n}{100}$ Lösung entspricht daher $\frac{1}{100}$ Milligrammäquivalent. Die Gesamtmenge der angewendeten Säure, vermindert um die zur Rücktitration erforderlichen Kubikzentimeter $\frac{n}{100}$ Lauge, gibt mit diesem Faktor multipliziert die vorhandene Menge Alkaloid.

Beispiel: Das isolierte Alkaloid sei Atropin gewesen und die gewichtsanalytische Bestimmung habe 0·04 *g* ergeben, so würden nach der Gleichung $C_{17}H_{23}NO_3$ (Mol.-Gew. 289) + HCl = $H_{17}H_{23}NO_3$. HCl 289 *g* Atropin 36·5 *g* HCl entsprechen, somit 2·89 *g* Atropin 1 *l* $\frac{n}{100}$ Säure, welche

ja im Liter 0·365 *g* HCl aufgelöst enthält. Von dieser entspricht also 1 *cm*³ = 0·00289 *g* Atropin. Demnach würden 20 *cm*³ dieser Salzsäure bereits 0·0578 *g* Atropin neutralisieren und zur Auflösung der vorhandenen 0·04 *g* reichlich genügen. Zum Zurücktitrieren seien zunächst 7 *cm*³ $\frac{n}{100}$ KOH verbraucht worden, dann nach einem Zusatz von 1 *cm*³ $\frac{n}{100}$ Säure nochmals 0·5 *cm*³ der Lauge. Dann sind im ganzen 21 *cm*³ Säure und 7·5 *cm*³ Lauge verwendet worden. Die Differenz von 13·5 *cm*³ wurde zur Neutralisation des Alkaloids verbraucht. Daher sind 13·5 × 0·00289 *g* = 0·0390 *g* Atropin vorhanden.

Zur richtigen Ausmittlung des Alkaloids muß dieses in freier Form und nicht teilweise als Salz vorliegen. Letzteres kann sich besonders dann ergeben, wenn zur Ausschüttlung des Alkaloids Chloroform verwendet und dieses durch Erwärmen entfernt wurde. Durch stärkere Basen wird nämlich aus Chloroform Salzsäure abgespalten, welche das Alkaloid in das Chlorhydrat zum Teil überführen kann. Chloroform sollte also bei der Ausschüttlung für die quantitative Bestimmung nicht verwendet oder wenigstens in der Kälte abgedunstet werden.

Folgende Alkaloide sind nach dieser Methode bestimmt und der Faktor festgestellt worden, mit dem die verbrauchten Kubikzentimeter Säure zu multiplizieren sind, um die Menge des Alkaloids in Grammen zu ergeben:

Alkaloid	Faktor	Alkaloid	Faktor
Akonitin	0·00647 *g*	Koniin	0·00127 *g*
Atropin, Hyoszyamin	0·00289 „	Morphin (wasserfrei)	0·00285 „
		Nikotin	0·00162 „
Bruzin (wasserfrei)	0·00394 „	Pilokarpin	0·00208 „
Emetin	0·00254 „	Protoveratrin	0·00625 „
Granatwurzelalkaloide (Mittelwert)	0·001475 „	Pseudojervin	0·00517 „
		Rubijervin	0·00401 „
Jervin	0·00411 „	Strychnin	0·00334 „
Kokain	0·00303 „		

Nach derselben Methode dürften sich auch Anagyrin, Arekabasen, Apomorphin, Homatropin, Kodein, Physostigmin, Skopolamin, Thebain, Zytisin titrieren lassen. Dagegen ist die Methode nicht anwendbar bei den schwachen Basen Chelidonin, Hydrastin, Koffein, Korytalin, Mutterkornalkaloiden, Narzein, Narkotin, Papaverin, Theobromin, deren Salze in wässeriger Lösung hydrolytisch gespalten sind, und bei den starken Basen der Chiningruppe, welche aber unter Verwendung von Hämatoxylin als Indikator mit $\frac{n}{10}$ Säure titriert werden können, welchem Indikator gegenüber sich die Chinaalkaloide als einsäurige Basen verhalten.

Quantitative Bestimmung des Chinins nach *J. Katz*.[1]) Der Kern dieser Methode besteht darin, daß das freie Chinin durch Eindampfen

[1]) *J. Katz*, Ber. d. Deutschen pharm. Ges. **20**. 316 (1910).

in alkoholischer Lösung unter Zusatz von Salzsäure in das zweisäurige Salz verwandelt wird, daß überschüssige Säure durch das zugesetzte Kochsalz verflüchtigt wird und daß in dem erhaltenen zweisäurigen Salz die Säure in alkoholischer Lösung mit alkoholischer $\frac{n}{10}$ Kalilauge und *Poirriers* Blau als Indikator titriert wird.

Ausführung: Die Methode ist für Extrakte, Tinkturen, Rinde etc. anwendbar. 6 *g* getrocknete und gepulverte Chinarinde werden mit 15 *g* Chloroform und 5 *g* einer 5%igen Natronlauge $^1/_2$ Stunde lang geschüttelt. Darauf setzt man 45 *g* Äther und ca. 1 *g* Magnesia usta zu, schüttelt kräftig um und filtriert 40 *g* der klaren Chloroformätherlösung ab. Der Chloroformäther wird bis auf etwa 1 cm^3 abdestilliert, der Rückstand wird mit 3×3 cm^3 Alkohol in ein Schälchen gespült, mit 10 Tropfen Salzsäure und ca. 0·25 *g* Kochsalz versetzt und auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Gegen Ende des Verdampfens sorgt man durch fleißiges Schwenken des Schälchens dafür, daß sich das Kochsalz als feines Kristallmehl und nicht in großen Kristallen absetzt und daß die Masse sich möglichst dünn auf dem Boden des Schälchens verteilt. Darauf spült man die an den Wänden des Schälchens befindliche Masse mit Hilfe der Spritzflasche mit Alkohol auf den Boden der Schale und dampft unter fleißigem Umschwenken wiederum ein. Der eingetrocknete Rückstand bleibt noch $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade oder besser im Wassertrockenschrank stehen. Darauf löst man die Masse in etwas Alkohol und spritzt sie mitsamt dem ungelösten Kochsalz in einen kleinen Erlenmeyerkolben, ergänzt die Flüssigkeit mit Alkohol auf etwa 25 cm^3, setzt 5 Tropfen einer 0·2%igen Lösung von *Poirriers* Blau zu und titriert mit einer alkoholischen $\frac{n}{10}$ Kalilauge, die man sich durch Mischen von 10 cm^3 Normalkalilauge mit absolutem Alkohol zu 100 cm^3 hergestellt hat. Die verbrauchten Kubikmeter $\frac{n}{10}$ Kalilauge werden mit 1·62 (das halbe Molekulargewicht des Chinins beträgt 162) multipliziert und ergeben durch 4 dividiert den Prozentgehalt der Chinarinde an Alkaloid. Der Umschlag des Indikators ist in diesem Falle scharf von Himmelblau in Zwiebelrot.

Eine quantitative Morphinbestimmung in Rinderblut beschreibt *E. Tauber*[1]): Zu 100 resp. 200 cm^3 Rinderblut und dem vierfachen Volumen Wassers waren 0·1 resp. 0·2 *g* salzsaures Morphin, in 10—15 cm^3 destillierten Wassers gelöst, hinzugefügt, diese Mischung mit einigen Tropfen Essigsäure bis zur schwachen, aber deutlich sauren Reaktion versetzt, dann auf freier Bunsenflamme in einem glasierten eisernen Topf von 5—6 *l* Inhalt bei Siedehitze koaguliert, wobei mit einem starken Glasstab fortwährend umgerührt wurde, bis das Koagulum hellbraun gefärbt und die Flüssigkeit farblos geworden war. Noch heiß wurde dann durch ein angefeuchtetes Leinwandfilter koliert, mit essigsäurehaltigem destillierten Wasser

[1]) *E. Tauber*, Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol. **27**. 353 (1890).

ausgewaschen, bis das anfangs etwas rötlich gefärbte Waschwasser ganz farblos wurde. Filtrat und Waschwasser wurden vereint und so lange mit basisch-essigsaurem Blei versetzt, als noch ein Niederschlag entstand. Nachdem der letztere sich klar abgesetzt hatte, wurde filtriert, der Niederschlag auf dem Filter erst mit destilliertem Wasser, dann mit 95⁰/₀igem Alkohol ausgewaschen, bis einige Tropfen des alkoholischen Filtrates auf einem Porzellanschälchen verdunstet, weder einen Rückstand noch die *Fröhde*sche Morphinreaktion gaben. Dieses wässerige, von Alkohol befreite Filtrat wurde durch Einleiten von H_2S entbleit, vom abgeschiedenen Schwefelblei abfiltriert, der Niederschlag auf dem Filter wiederum so lange mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis eine kleine Probe verdampft keine Morphinreaktion mehr gab. Das Filtrat davon wurde von dem absorbierten H_2S-Gas mittelst Durchleitens von Luft an der Pumpe befreit, auf dem Wasserbad bis fast zur Trockne verdampft und der Rückstand mit Alkohol aufgenommen. Durch den Alkohol scheiden sich die Salze und meist auch noch amorphe organische, mehr oder weniger gefärbte Substanzen ab; nach mehrstündigem Stehen und öfterem Digerieren wird filtriert, der Rückstand mit Alkohol nachgewaschen und das alkoholische Filtrat langsam verdunsten gelassen. Der alkoholische Rückstand wird mit wenig Wasser aufgenommen, filtriert und das Filtrat bis auf einige Kubikzentimeter, eventuell nach nochmaligem Auflösen in Alkohol und Ausfällen der organischen Farb- und Extraktivstoffe mit basisch-essigsaurem Bleioxyd, eingeengt. Aus dieser wässerigen sauren Lösung wird durch allmählichen Zusatz von fein pulverisiertem festen Natriumkarbonat das freie Morphin abgeschieden. Je nach der Temperatur und Konzentration erfolgt die Abscheidung schneller oder langsamer. Nimmt man die Ausfällung in warmer Lösung vor, so fällt der fast immer rein weiße Niederschlag schön kristallinisch aus, denn die Löslichkeit des freien Morphins in Wasser (1 : 1000 bei gewöhnlicher Temperatur) nimmt mit der Erwärmung zu und in dem Maße erfolgt die Ausfällung langsamer, was für die Kristallbildung von Vorteil ist. Bei sehr verdünnten Lösungen kann die Ausscheidung mitunter erst nach 24 Stunden deutlich werden. Da Morphin in Wasser etwas löslich ist, muß eine Korrektur angebracht werden. Man fängt in einem kleinen Meßzylinder das Filtrat dieses Niederschlages auf, liest das Volumen von Filtrat und Waschwasser ab. Jeder Kubikzentimeter Flüssigkeit entspricht 1 *mg* Morphin. Die Anzahl der aufgefangenen Kubikzentimeter muß also der Gewichtszahl des abgewogenen Niederschlages in Milligramm zugerechnet werden. Das Filter wird vorher und mit dem Niederschlag nachher bei 110° C getrocknet und gewogen. Auf diese Weise konnten 95·28⁰/₀ des dem Blute zugesetzten Morphins wiedergewonnen werden.

A. D. Thorburns titrimetrische Morphinbestimmungsmethode[1]: Die wässerige Lösung der Morphinsalze wird ammoniakalisch gemacht und mit

[1]) *A. D. Thorburn,* Journ. of Ind. and Engin. Chem. 3. 754 (1910).

einer Mischung von 3 Teilen Phenyläthylalkohol (der etwas mehr als $^1/_{20}$ seines Gewichtes Morphin bei Zimmertemperatur löst und selbst in Wasser sehr wenig löslich ist) und einem Teil Benzol ausgeschüttelt, bis eine Probe mit *Mayers* Reagens die vollständige Extraktion des Morphins aus der wässerigen Lösung anzeigt, was gewöhnlich nach zwei Extraktionen der Fall ist. Die Lösung wird eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, eine bekannte Menge $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure zugefügt und die wässerige Lösung mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge unter Verwendung von Hämatoxylin als Indikator titriert; 1 *cm*³ der Säure entspricht 0·03 *g* kristallisierten oder 0·0283 *g* wasserfreien Morphins oder 0·0376 kristallisierten Morphinsulfats. Es können auf diese Weise Mengen von weniger als 0·175 *g* bestimmt und die Bestimmung in 4 Stunden durchgeführt sein.

Nikotinbestimmung nach *Bertrand* und *Javillier*[1]) modifiziert von *R. M. Chapin:*

Soviel Substanz als 1—2 *g* Nikotin entspricht (von Extrakten mit viel fremden Substanzen nicht mehr als 30 *g*), wird in einen Rundkolben gespült und 1—1·5 *g* Paraffin nebst ein wenig Bimsstein und 5—10 *cm*³ starker Natronlauge 1 : 2 hinzugefügt. Nunmehr wird das freie Nikotin mittelst eines starken Wasserdampfstromes abgeblasen, bis einige Kubikzentimeter des Destillates sich mit Silikowolframsäure nicht mehr trüben. Als Vorlage dienen 10 *cm*³ Salzsäure 1 : 4. Das im Destillationskolben zurückbleibende Flüssigkeitsvolumen soll bei Beendigung der Destillation so klein als möglich sein. Das Destillat wird auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, durch ein trockenes Filter filtriert und in einem Teil durch Methylorange die saure Reaktion festgestellt. Nun wird eine bestimmte, ungefähr $\frac{1}{10}$ *g* Nikotin entsprechende Menge des Destillates mit der Pipette abgehoben und auf je 100 *cm*³ Flüssigkeit 3 *cm*³ Salzsäure 1 : 4 und auf ca. 0·01 *g* Nikotin 1 *cm*³ einer 12%igen Lösung Silikowolframsäure hinzugefügt. Der entstehende Niederschlag wird gut umgerührt, 11 Stunden stehen gelassen und dann über ein quantitatives Filter abfiltriert, mit kaltem Wasser, das auf 1 *l* 1 *cm*³ konzentrierter HCl enthält, gewaschen. Die ersten Anteile des Filtrates sind mit einigen Tropfen des Destillates auf einen Überschuß von Silokowolframsäure zu prüfen. Filter und Niederschlag werden noch feucht in einen Platintiegel vorsichtig verascht und zuletzt geglüht. Das Gewicht des Rückstandes mit 0·114 multipliziert gibt die Menge des gefällten Nikotins an. Zur Erzielung noch größerer Genauigkeit kann der Niederschlag in einem gewogenen Goochtiegel gesammelt, bis 125° getrocknet und als wasserfreies Nikotin-Silokowolframat $2\,C_{10}H_{14}N_2 . 2\,H_2O . SiO_2 . 12\,W_0O_3$ gewogen werden. Man kann den Silikowolframniederschlag auch in Wasser verteilen, das Salzsäure und Reagens

[1]) *Bertrand* und *Javillier*, Bull. de la Science Pharm. (4). 5. 241 (1909); **16**. 7 (1909).

enthält, denselben nach dem Zentrifugieren durch $MgO + H_2O$ zersetzen, das abgespaltene Nikotin durch Wasserdampf übertreiben und mit Schwefelsäure, die im Liter 3·024 *g* H_2SO_4 enthält, unter Verwendung von Alizarinsulfosäure als Indikator titrieren. 1 *cm*³ dieser Säure entspricht 10 *mg* Nikotin.

Bei Gegenwart von Pyridinbasen bestimmt man das Nikotin nach *L. Surre*[1]) folgendermaßen:

Destilliert man 50 *cm*³ einer 1—8% Nikotin oder Nikotinsalz enthaltenden Lösung bei Anwesenheit von MgO und pulverisiertem Bimsstein mit Wasserdampf über, so sind in den ersten 150 *cm*³ das Nikotin zum größten Teil und sämtliche Pyridinbasen enthalten, in den folgenden 150 *cm*³ der Rest des Nikotins. Nun geht die polarimetrische Ablenkung von 1- bis 8%igen Nikotinlösungen ihrer Konzentration proportional, ohne daß selbst Beimengungen von 10% Pyridinbasen den polarimetrischen Ablenkungswert beeinflussen. Destilliert man aus 50 *cm*³ Probe zweimal je 150 *cm*³ ab, so berechnet sich der Nikotingehalt in Grammen pro Liter nach der Formel: $N + N' = A \times 18{\cdot}57 + n \times 0{\cdot}486$, wo N den Nikotingehalt des ersten, N' den des zweiten Destillates, A die Ablenkung im 20 *mm*-Rohr des *Laurent*schen Apparates bei 20° C, n die zur Bestimmung von 100 *cm*³ des Destillates erforderliche Anzahl Kubikzentimeter $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure bedeuten. Die Nikotinmenge der ersten 150 *cm*³ des Destillates wird polarimetrisch, die der zweiten 150 *cm*³ maßanalytisch bestimmt. Reagiert der Saft sauer, so muß die Destillation unter Zufügung von mindestens 1 *g* MgO und 2 *g* Bimsstein vorgenommen werden: Die Konstanten der Berechnungsformel sind in diesem Falle zu verdoppeln, also:

$$N + N' = A \times 37{\cdot}14 + n \times 0{\cdot}972.$$

Zur Titration kann man 0·5 *cm*³ einer Lösung von 0·1 *g* Luteol in 50 *cm*³ 90%igem Alkohol benützen. Höherprozentige Tabaklaugen müssen auf höchstens 10% verdünnt werden. In frischen Pflanzen kann man den Nikotingehalt nach *Mellet*[2]) bestimmen. Etwa 250 *g* der fein zerschnittenen Pflanzensubstanz wird im verschlossenen Kolben mit siedendem Wasser übergossen stehen gelassen und nach 24 Stunden mit Kalkmilch versetzt und im verschlossenen Kolben unter häufigem Umschütteln wieder 24 Stunden stehen gelassen. Das in Freiheit gesetzte Nikotin wird mit Wasserdampf abdestilliert, wobei sich das Volumen im Destillationskolben verringern muß. Die Destillation ist beendigt, wenn das Dreifache der ursprünglichen Flüssigkeit überdestilliert ist. Nun wird das Destillat mit Schwefelsäure angesäuert, unter möglichster Vermeidung von Luftzutritt eingeengt, Kaliumhydroxyd hinzugefügt und mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird eingedunstet, wobei das in der Lösung enthaltene Ammoniak entweicht. Der Äther wird, nachdem die Dämpfe kein Ammoniak mehr enthalten, bei gewöhnlicher Temperatur zur Trockne gebracht.

---

[1]) *L. Surre*, Annales des Falsifications. 4. 331 (1911).

[2]) *R. Mellet*, Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 49. 117 (1911).

der Rückstand in Wasser gelöst und mit $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure titriert. Der Gesamtverlust an Nikotin bei diesen Operationen beträgt im Mittel 0·06 *g*, die also den gefundenen Werten zuzurechnen sind.

Nikotinbestimmung nach *M. Popovici:* 20 *g* Tabakpulver werden mit 10 *cm*³ einer verdünnten alkoholischen Natronlauge (6 *g* NaOH auf 40 *g* Alkohol) unter Zufügung von 60 *cm*³ 95⁰/₀igen Alkohols imprägniert und dann im Soxhletapparat 3—4 Stunden mit Äther ausgezogen. Der ätherische Auszug wird in demselben Kolben, welcher den Ätherextrakt aufgenommen hat (beim Extrahieren im Extraktionsapparat), mit 10 *cm*³ einer ziemlich konzentrierten salpetersauren Phosphormolybdänsäurelösung geschüttelt, wodurch Nikotin, Ammoniak, Pyridin etc. als ein leicht zu Boden sinkender Niederschlag ausgefällt wird und die überstehende Ätherschicht sorgfältig abgegossen. Der den Niederschlag enthaltende Schlamm wird durch Zusatz von destilliertem Wasser auf 50 *cm*³ gebracht und das Nikotin durch Hinzufügen von 80 *g* feingepulverten $Ba(OH)_2$ in Freiheit gesetzt. Da die Zersetzung langsam erfolgt, so empfiehlt es sich, den Kolben mindestens einige Stunden lang unter öfterem Umschütteln stehen zu lassen. Der anfängliche Niederschlag ändert seine Farbe, die anfangs blau ist, bald in blaugrün und wird schließlich gelb. Das erhaltene alkalische Zersetzungsprodukt, welches das freie Nikotin enthält, wird abfiltriert und mit dem immer etwas gelb gefärbten klaren Filtrat eine Polarisationsröhre gefüllt und mittelst eines Polarisationsapparates der Drehungswinkel in Minuten abgelesen. Um aus dem Drehungswinkel die Menge des Nikotins zu berechnen, bedient man sich einer Tabelle, welche in folgender Weise zusammengestellt ist: eine ätherische Lösung von bekanntem Nikotingehalt wird bereitet und aus dieser genau nach dem oben angegebenen Verfahren das Nikotin herausgefällt und die Ablenkung der Polarisationsebene durch eine 2 *dm* lange Schicht der Lösung bestimmt.

	50 *cm*³ Lösung enthalten Nikotin in Gramm	Differenz in Gramm	Der beobachtete Drehungswinkel in Minuten	Differenz in Minuten	Einer Minute entsprechender Nikotingehalt in Gramm
1.	2·000	—	337	—	—
2.	1·875	0·125	318	19	0·00656
3.	1·750	0·125	298	20	0·00625
4.	1·625	0·125	278	20	0·00625
5.	1·500	0·125	258	20	0·00625
6.	1·375	0·125	238	20	0·00625
7.	1·250	0·125	217	21	0·00595
8.	1·125	0·125	196	21	0·00596
9.	1·000	0·125	175	21	0·00595
10.	0·875	0·125	154	21	0·00595
11.	0·750	0·125	133	21	0·00595
12.	0·625	0·125	111	22	0·00569
13.	0·500	0·125	89	22	0·00569
14.	0·375	0·125	67	22	0·00569
15.	0·250	0·125	45	22	0·00569

Um den Tabak auf seinen Nikotingehalt zu prüfen behandelt man eine abgewogene Menge desselben in der angegebenen Weise und bestimmt

den Drehungswinkel der so erhaltenen Nikotinlösung. Aus der gefundenen Zahl ergibt sich der Nikotingehalt der angewendeten Tabakmenge entweder durch direkte Vergleichung dieser Zahl mit der Tabelle oder durch Multiplizieren derselben mit dem in der letzten Kolonne angegebenen Koeffizienten. Die Menge des Fällungsmittels, des hinzugefügten Wassers, des zur Zersetzung des Niederschlages angewendeten Alkalis und die Länge der zur Polarisation dienenden Röhre muß bei allen Versuchen genau dieselbe sein. *J. v. Degrazia* (Fachliche Mitteilungen der österreichischen Tabakregie 1910) treibt das Nikotin, statt es zu fällen, mit Wasserdampf über und bestimmt im Polarisationsapparat den Drehungswinkel des Destillates nach der Formel: P (Prozentgehalt an Nikotin) $= \frac{\alpha . G . f}{g}$, wo α der Ablesungswinkel, G das Gewicht des Destillates, g das Gewicht des Tabakextraktes und f einen einer Tabelle der Originalarbeit zu entnehmenden Korrektionsfaktor bedeutet.

Verfahren von *W. König* (Chemikerzeitung, **35**, 521 [1911]): 20 *g* Tabakextrakt werden mit Seesand, dem 4 *cm*³ einer Natronlauge 1:1 hinzugefügt wurden, verrieben und soviel Gips beigegeben, bis ein fast trockenes Pulver entsteht. Dieses wird mit 100 *cm*³ Xylol (nach der Modifikation von *Tóth*) 2—3 Stunden digeriert, nach dem Absitzen, das sehr schön und schnell vonstatten geht, 30—40 *cm*³ abfiltriert und polarisiert. Zur maßanalytischen Bestimmung werden 25 *cm*³ des Filtrates mit 25—50 *cm*³ $\frac{n}{10}$ Salzsäure und 50—75 *cm*³ Wasser versetzt und nach Zugabe von 25 *cm*³ Äther, dem 4 Tropfen einer alkoholischen Auflösung von Jodeosin 1:500 zugesetzt wurden, kräftig geschüttelt und unter fortwährendem Schütteln mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge bis zur Blaßrosafärbung zurücktitriert. 1 *cm*³ $\frac{n}{10}$ Salzsäure = 0·0162 *g* Nikotin. Die Art des Indikators ist für alle Nikotinbestimmungen von großer Wichtigkeit, je nach dem Indikator kann das Resultat auch bei gleich konzentrierten Lösungen sehr wesentlich differieren. Es ist deshalb nicht nur wichtig, stets ein und denselben Indikator zu benützen, sondern auch das Auge mit dem betreffenden Umschlag genau vertraut zu machen. Es empfiehlt sich vielleicht auch, statt Jodeosin Cochenille (stets frisch bereitet) anzuwenden, dessen Umschlag von Blaßrot nach Farblos recht gut zu beobachten ist.

Von den Fällungsverfahren ist das zuverlässigste das nach *Bertrand-Javillier*, von den maßanalytischen das nach *König* und das gleich zu beschreibende nach *Tóth*, von den polarimetrischen das von *Popovici* und *Surre*. Das eleganteste, in kürzester Zeit auszuführende Verfahren, welches auch bei einiger Übung genaue Zahlen liefert, ist das von *J. Tóth*: Man zerreibt den lufttrockenen Tabak möglichst fein (es ist eine wesentliche Bedingung für die genauen Resultate nach dieser Methode, daß das Pulver äußerst fein zerrieben ist und von den Blattrippen keine größeren unzerriebenen Stücke zurückbleiben, die bei der Extraktion Nikotin zurückhalten könnten), verrührt 6 *g* in einer Porzellanschale mit 10 *cm*³ Natron-

lauge von 20% und gibt so viel Gips zu, bis die Masse pulverig geworden ist. Auch hier ist es sehr wesentlich, daß das Durcharbeiten mit der Natronlauge sorgfältig erfolgt und eine völlig durchtränkte Masse resultiert, in der aber keine zusammengebackenen Klumpen erscheinen dürfen. Das Durcharbeiten geschieht zweckmäßig mit zwei Nickelspateln, welche am Schlusse des Durchmischens mit Filtrierpapier quantitativ abgewischt werden, das dann beim präparierten Tabakpulver verbleibt. Das Ganze wird mit ca. 100 cm^3 eines aus gleichen Teilen Petroläther-Äther hergestellten Gemisches in einen Kolben gespült und einige Zeit geschüttelt. Dann wird eine Stunde absitzen gelassen und möglichst schnell 25 cm^3 herauspipettiert. Zu dieser Menge gibt man 40—50 cm^3 Wasser und einen Tropfen Jodeosin (resp. Cochenille) und einen Überschuß von $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure; den Überschuß titriert man dann mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge zurück. Von Tabaksaucen nimmt man 10 *g* in Arbeit. Von dem vorhandenen Ammoniak geht im Höchstfalle 0·0005 *g* in die 25 cm^3 der Petroläther-Ätherlösung über.

Koffeinbestimmung nach *K. Gorter*[1]): Das Koffein ist im Kaffee größtenteils in Form der Doppelverbindung chlorogensaures Kalikoffein enthalten, welcher das Koffein durch trockenes Chloroform nicht entzogen werden kann. Aus trockenem Kaffeepulver nimmt Chloroform auch bei neunstündiger Extraktionsdauer nur ein Zehntel der totalen Koffeinmenge auf. Wird aber das Kaffeepulver vorher mit Wasser durchfeuchtet, so gelingt es leicht, das gesamte Koffein innerhalb drei Stunden mit Chloroform zu extrahieren. 11 *g* sehr fein gepulverten Kaffees werden mit 3 cm^3 Wassers durchfeuchtet. Nach einer halben Stunde ist das Wasser genügend absorbiert; nun wird während drei Stunden im *Soxhlet*schen Apparat mit Chloroform extrahiert. Man destilliert dann das Chloroform ab und zieht den aus Fett und Koffein bestehenden Rückstand mit heißem Wasser aus. Das Fett wird über einen dichten Wattepfropf abfiltriert und mit heißem Wasser nachgewaschen, so daß alles Koffein in das Filtrat gelangt. Dieses wird nach dem Erkalten mit Wasser bis zu 55 cm^3 aufgefüllt und hiervon 50 cm^3 abpipettiert. Man führt nun durch viermal wiederholtes Ausschütteln mit Chloroform das Koffein in dieses über und destilliert dann aus einem tarierten Kölbchen ab. Das rückständige Koffein ist von fast weißer Farbe und wird nach dem Trocknen bei 100° gewogen. Eine Hauptbedingung für die exakte Bestimmung ist feinstes Pulverisieren des Kaffees.

Koffeinbestimmung nach *Lendrich* und *Nottbohm*[2]): 20 *g* feingemahlener Kaffee werden mit 10 cm^3 Wasser versetzt und damit 1 bis 2 Stunden stehen gelassen; dann wird das Pulver 3 Stunden mit Tetrachlorkohlenstoff extrahiert, dem Auszug 1 *g* Paraffin zugesetzt, der Tetrachlorkohlenstoff verdunstet und der Rückstand mit siedendem Wasser ausgezogen. Das abgekühlte Filtrat (200 cm^3) wird bei Rohkaffee mit 10—15 cm^3,

[1]) *K. Gorter*, *Liebig*s Annalen d. Chem. **358**. 339 (1908).

[2]) *K. Lendrich* und *E. Nottbohm*, Zeitschr. f. d. Unters. v. Nahrungs- und Genußmitteln. **17**. 241 (1909).

bei geröstetem Kaffee mit 30 *cm*³ 1%iger Lösung von Kaliumpermanganat versetzt, nach ¼stündigem Einwirken das Mangan durch 3%iges Wasserstoffsuperoxyd, dem 3% Essigsäure zugesetzt wurden (100:1), als Superoxyd gefällt, gekocht und abfiltriert. Das Filtrat wird zum Trocknen verdampft, kurze Zeit bei 100° C getrocknet und mit wässerigem Chloroform erschöpft. Nach Verdunsten des Extraktionsmittels wird das Koffein, das bei Rohkaffee rein weiß, bei geröstetem leicht gelbstichig ist, ½ Stunde bei 100° C getrocknet und gewogen.

Quantitativer Nachweis von Solanin nach *v. Morgenstern:* 100—200 *g* Kartoffeln werden zu einem feinen Brei zerrieben und unter Wasserzusatz mehrfach ausgepreßt; zweimalige Wiederholung genügt in der Regel. Aus den vereinigten Lösungen wird durch Zusatz von 0·5 *cm*³ Eisessig und einstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade das Eiweiß ausgefällt. Das Filtrat vom Eiweißniederschlag wird zum Sirup eingedampft und mit 96%igem Alkohol unter Umrühren so lange versetzt bis ein weiterer Zusatz keine Trübung mehr hervorruft; nach zwölfstündigem Stehen wird die Lösung abgegossen. Der Rückstand wird zweimal mit heißem Alkohol ausgeknetet. Die alkoholischen Lösungen werden auf dem Wasserbad vom Alkohol befreit, mit essigsaurem Wasser aufgenommen, erwärmt, filtriert, zum Sieden erhitzt und tropfenweise mit Ammoniak gefällt. Nach fünf Minuten langem Stehen auf dem Wasserbade wird der entstandene Niederschlag gesammelt, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen und in siedendem Alkohol gelöst. Diese Lösung wird dann nach dem Verdampfen des Alkohols in der gleichen Weise noch einmal behandelt. Das Solanin kann auf einem bei 90° getrockneten Filter gesammelt und bei derselben Temperatur getrocknet werden, oder nach dem Lösen in heißem Alkohol in einem tarierten Schälchen zur Trockene verdampft werden. Andere Pflanzenteile werden vor dem Extrahieren bei 100° getrocknet, fein gemahlen und dann mehrmals bei Siedehitze mit essigsäurehaltigem Wasser ausgezogen.

Sehr kleine Quantitäten von Alkaloiden lassen sich nach *Traubes* Tropfenzählmethode quantitativ bestimmen. Der Gebrauch des dazu dienenden Stalagmometers wird an anderer Stelle dieses Werkes beschrieben.[1] Die Firma *C. Gerhardt*, Bonn liefert als Hilfsapparat zum Stalagmometer auch automatische Tropfenzählapparate mit elektrischem Kontakt und Klingelwerk.

Bei manchen kolloidalen Medien, z. B. in Farbstofflösungen, wie Nachtblau, Nilblau, Wollviolett etc., erfährt die Oberflächenspannung und damit die Tropfengröße eine oft bedeutende Änderung, falls Stoffe zugesetzt werden, die als Kolloidgifte bezeichnet werden können, wozu auch die Alkaloide gehören. Die Kolloidgifte sind identisch mit Blutgiften, indifferente Stoffe dagegen ändern die Tropfengröße nicht, so daß solche „kolloidgiftige" Stoffe auch im Gemenge mit indifferenten Stoffen und in verschiedenen Lösungsmitteln nachgewiesen werden können. Für die Alkaloidbestimmung scheint *Traubes* kapillartitrimetrische Methode recht

[1]) S. a. Berichte d. Deutschen chem. Ges. **20**, 2644, 2824, 2829, 2831 (1887); Biochemische Zeitschr., **24**, 341 (1910).

verwendbar zu sein. Wenn man eine mit einigen Tropfen Quecksilberchlorid geimpfte Nachtblaulösung tropfenweise mit entsprechend äquivalenter Jodkalilösung versetzt, so nähert sich das Medium in dem Maße, in dem es „entgiftet" wird, wieder dem normalen Gleichgewichtszustande.

10 *cm*³ einer 0·2⁰/₀igen Nachtblaulösung (Tropfenzahl = 58·2) wurden mit 10 Tropfen $\frac{1}{40}$ äquivalenter $HgCl_2$-Lösung mit dem Tropfglas versetzt. Die Tropfenzahl betrug jetzt 45·5. Die folgende Reihe zeigt den Einfluß eines tropfenweisen Zusatzes von $\frac{1}{20}$ äquivalenter Jodkalilösung zu 10 *cm*³ Nachtblau:

Tropfen JK:	1	2	3	4	5	6	7	8	10
Tropfenzahl:	46·2	46·1	48·25	52·05	54·2	54·3	51·05	50·2	49·9

1 Tropfen $\frac{1}{40}$ äquivalenter $HgCl_2$-Lösung wie $\frac{1}{20}$ äquivalenter JK-Lösung entspricht sehr angenähert 0·09 *cm*³. An Stelle der bequemeren Tropfgläser kann man natürlich auch feinere Tropfpipetten verwenden.

Ein Maximum der „Entgiftung" in obiger Reihe ist bei Zusatz von 5—6 Tropfen JK-Lösung zu sehen, dann macht sich der vergiftende Einfluß des überschüssigen Jodkaliums geltend.

Bei Alkaloidtitrationen benützt man Wollviolett und Tannin; bei hinreichender Verbindung bleibt die Lösung völlig durchsichtig.

10 *cm*³ 0·2⁰/₀iges Wollviolett	Tropfenzahl	55·65
dazu 1 Tropfen = 0·075 *cm*³ 2⁰/₀iges Kokainchlorhydrat	„	64·8
„ 1 „ = 0·09 *cm*³ 0·4⁰/₀iges Tannin . . .	„	63·7
„ 2 „ „ „ „	„	63·2
„ 5 „ „ „ „	„	61·9
„ 10 „ „ „ „	„	60·6
„ noch weitere 5 Tropfen 2⁰/₀iges Tannin . . .	„	58·2
„ „ „ 10 „ „ „ . . .	„	55·4
10 *cm*³ Wollviolett	„	55·65
„ Wollviolett + 1 Tropfen = 0·09 *cm*³ ¹/₁₀₀⁰/₀iges Akonitinchlorhydrat	„	55·95
„ Wollviolett + 2 Tropfen ¹/₁₀₀⁰/₀iges Akonitinchlorhydrat	„	56·2
„ Wollviolett + 4 Tropfen ¹/₁₀₀⁰/₀iges Akonitinchlorhydrat	„	56·65
„ Wollviolett + 10 Tropfen ¹/₁₀₀⁰/₀iges Akonitinchlorhydrat	„	58·—
„ Wollviolett + 20 Tropfen ¹/₁₀₀⁰/₀iges Akonitinchlorhydrat	„	60·2
dazu 2 Tropfen ¹/₁₀₀⁰/₀iges Tannin	„	59·9
„ 5 „ „ „	„	59·55
„ 20 „ „ „	„	58·4
„ 40 „ „ „	„	56·95
„ 70 „ „ „	„	56·—

Die Methoden der Kautschukbestimmung.

Von **Viktor Grafe**, Wien.

Für die Analyse von Kautschukarten haben *C. Harries, C. O. Weber* und *Th. Budde* Methoden ausgearbeitet, die mehrfach modifiziert worden sind. Gelegentlich einer Untersuchung[1]) habe ich Veranlassung gehabt, diese Methoden vergleichend zu überprüfen und sie als in befriedigender Übereinstimmung untereinander befunden. Der Gang dieser Untersuchung sei hier beschrieben. Die etwa mannshohen Pflanzen von Lactuca viminea wurden zunächst mehrere Tage neben dem geheizten Ofen stehen gelassen, bis sich die Stammruten im Mörser zerstoßen ließen, und dann möglichst fein gemahlen. Das Material wurde dann im Soxhletapparat bis zur Erschöpfung mit Petroläther behandelt, wobei ein klebriger harzartiger Rückstand und eine gelbbraune gefärbte Flüssigkeit von schwach narkotischem Geruch erhalten wurde. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels hinterblieb schon in der Wärme ein körniger gelblicher Rückstand mit allen Eigenschaften des Laktukons. Der harzige Rückstand nebst der gelbbraunen Flüssigkeit wurde nun mit 10%igem alkoholischen Kali 24 Stunden am Rückflußkühler gekocht, wobei ein Teil der Substanz verseift wurde, von dem Ungelösten abfiltriert, mit Wasser und hierauf mit Alkohol nachgewaschen, getrocknet und gewogen. Der Rückstand wurde dann mit Schwefelkohlenstoff behandelt, wobei eine tiefbraune Lösung resultierte; nach Abdestillieren des Schwefelkohlenstoffs und Trocknen der Masse im Ölbade resultierte eine gelbgraue, beim leichten Erwärmen elastische Substanz, die angezündet intensiv nach angebranntem Kautschuk roch. Dieser „Rohkautschuk“ wurde in einem Kolben gesammelt, am Wasserbad mit frisch destilliertem Azeton so lange behandelt, bis nichts mehr in Lösung ging, worauf die grüne Masse nicht mehr klebrig war. Die zusammengeballten, mehr oder weniger elastischen Stückchen wurden der Kautschukanalyse unterworfen. Zunächst wurden sie in Schwefelkohlenstoff gelöst, durch Eingießen in Alkohol wieder gefällt, abfiltriert und im luftverdünnten Raum über Schwefelsäure getrocknet. Die Methoden von *Harries* und *Weber* beruhen auf der Bestimmung der Produkte, die beim Einleiten von nitrosen Gasen in die benzolische Lösung des Kautschuks entstehen, die von *Budde*

[1]) *V. Grafe* u. *K. Linsbauer*, Über den Kautschukgehalt von Lactuca viminea Presl. Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich. 1909. 126.

auf der Bildung des Tetrabromkautschuks durch Anwendung einer bestimmten Bromierungsflüssigkeit.

Bei der Behandlung einer wasserhaltigen benzolischen Kautschuklösung mit feuchter salpetriger Säure erhielt *Harries*[1]) ein gelbes Produkt von der Zusammensetzung $C_{20}H_{30}N_6O_{14}$ — sein Nitrosit C — das er für die quantitative Bestimmung von Kautschuk in Gemengen vorschlug. Die Nitrositmethode hat sich, von *Fendler* und *Dietrich* modifiziert, tatsächlich bewährt und in die Technik Eingang gefunden.[2])

1·5 *g* des gereinigten, mit Azeton extrahierten und getrockneten Produktes wurden mit 75 *cm*³ Benzol übergossen und bis zur Lösung in der Kälte stehen gelassen (ca. 3 Stunden). Zur Darstellung der salpetrigen Säure wurde Kartoffelstärke verwendet, 20 *g* gepulverte Stärke wurden mit HNO_3 (spez. Gew. 1·3) übergossen und am Wasserbade bis zur Auflösung stehen gelassen. Sobald die ersten roten Dämpfe entweichen, muß der Kolben vom Wasserbad entfernt und die erste heftige Reaktion abgewartet werden. Nach 5 Minuten ist das erreicht und der Kolben wird mit dem Trockenturme verbunden, der mit glasiger Phosphorsäure in Stangen gefüllt ist, und nun mit dem Einleiten begonnen. Die Einleitung dauerte 2 Stunden. Das Benzol wurde dann vorsichtig durch ein Filter abgegossen, mit Benzol nachgewaschen und der Kolben samt dem gebildeten Nitrosit im Vakuumexsikkator getrocknet und gewogen. Dann wurden 50 *cm*³ Azeton hinzugefügt, am Wasserbad einige Zeit erwärmt und durch ein gewogenes Filter durchgegossen, mit Azeton nachgewaschen. Das Becherglas wurde nach dem Trocknen zurückgewogen, das Filter getrocknet und dessen Inhalt — die ungelösten Anteile (Mineralsubstanzen) — vom Gewichte abgezogen. Die Gewichtsdifferenz zuzüglich dem Abzug für das Ungelöste ergibt die Menge des erhaltenen Nitrosits, aus welchem nach der Proportion:

$$289 : 136 = \text{gefälltes Nitrosit} : x.$$

die Menge des enthaltenen Reinkautschuks berechnet werden kann. Diese quantitative Bestimmungsmethode wurde von *Harries* zwar zunächst nur für Parakautschuk durchgeführt, es zeigte sich aber später, daß auch aus ganz harzigen schmierigen Produkten wie aus dem mexikanischen Guayule-Kautschuk u. a. das Nitrosit C ebenso wie aus reinem Parakautschuk gewonnen und zur quantitativen Bestimmung des Reinkautschuks verwendet werden kann.

Die Methode von *C. Weber*[3]) beruht ebenfalls auf der Fähigkeit des Kautschuks, sehr leicht mit nitrosen Gasen zusammenzutreten. Das er-

[1]) *C. Harries,* Zur Kenntnis der Kautschukarten. III. Ber. d. Deutschen chem. Ges. **36**. 2. 1937 (1903).

[2]) *Fendler,* Ber. d. Deutschen pharmak. Ges. H. 5 (1904). — *Dietrich,* Chemiker-Zeitung. **38**. 82. 974 (1903). — *O. Gottlob,* Über Einwirkung der salpetrigen Säure auf Kautschukarten. Zeitschr. f. angew. Chemie. **20**. H. 51. S. 2213 (1907).

[3]) *C. O. Weber,* Zur Analyse des Kautschuks und der Kautschukwaren. Ber. d. Deutschen chem. Ges. **36**. 3. S. 3103 (1903).

forderliche Stickstoffdioxyd wird durch allmähliches Erhitzen von Bleinitrat im schwer schmelzbaren Rohre gewonnen, das Gas wurde in die Benzollösung des entharzten Produktes geleitet, bis die Lösung eine tiefrotbraune Farbe angenommen hatte, das gelbbraune Reaktionsprodukt dann eine Stunde stehen gelassen und das Benzol durch ein Filter abgegossen. Die Masse, welche bei 50° getrocknet worden war, wurde mit warmem Azeton behandelt und zum Fällen der Mineralsubstanzen einige Zeit stehen gelassen. Es schied sich tatsächlich eine kleine Menge anorganischer Substanz ab, die von der Azetonlösung abfiltriert und mit Azeton gewaschen wurde. Dann wird die Lösung in die ca. 8fache Menge Wassers gegossen, der Kolben dabei unablässig geschwenkt, der verschlossene Kolben dann noch zehn Minuten geschwenkt und vor dem Filtrieren 24 Stunden stehen gelassen. Das gelbe Reaktionsprodukt hat sich nach dieser Zeit zu Boden gesetzt und wird durch ein gewogenes Filter abdekantiert. Das Filtrieren an der Saugpumpe nimmt relativ lange Zeit in Anspruch. Die Trocknung des Filters samt Inhalt wird bei einer Temperatur von 60—65° durchgeführt, bei welcher Temperatur eine Zersetzung des Produktes nicht stattfindet. Man erhält nach *Weber* die Menge des Reinkautschuks durch Multiplikation des Gewichtes des Nitroproduktes mit 0·6.

Schließlich hat *Th. Budde*[1]) eine Methode angegeben, die auf der Unlöslichkeit des Tetrabromkautschuks in Tetrachlorkohlenstoff beruht. Der zu untersuchende Rohkautschuk wird in Tetrachlorkohlenstoff durch längeres Stehenlassen gelöst (1 *g* Substanz in 100 cm^3 Tetrachlorkohlenstoff, davon 10 cm^3 zur Analyse verwendet und mit Tetrachlorkohlenstoff auf 50 cm^3 aufgefüllt) und nun die gleiche Volummenge der Bromierungsflüssigkeit, nämlich 16 *g* Br + 1 *g* J, gelöst in 1000 cm^3 Tetrachlorkohlenstoff, zufließen gelassen, wobei sich eine gallertartige Substanz abscheidet, welche nach Hinzufügung von absolutem Alkohol in eine beständige weiße Form übergeht. Die filtrierte und gewaschene Masse wird bei 60° getrocknet: 456 *g* Tetrabromkautschuk entsprechen 136 *g* Reinkautschuk. Zu diesem Verfahren existieren Modifikationen von *S. Axelrod*[2]), der den Faktor mit 314 angibt, und von *G. Fendler* und *O. Kuhn.*[3]) Nach diesen wird der Kautschuk mit Toluol in einen mit Glasstöpsel verschließbaren 100 cm^3 fassenden Kolben übergossen, offen in ein Wasserbad gestellt und so lange wiederholt geschüttelt, bis Lösung eingetreten ist. Die Lösung wird über Glaswolle filtriert und davon 10 cm^3 unter Nachspülen mit Tetrachlorkohlenstoff in ein Becherglas gebracht und dieses in die Dämpfe eines siedenden Wasserbades gestellt. Nach Abdunsten des Lösungsmittels wird

---

[1]) Veröffentl. aus dem Gebiete des Milit.-Sanit.-Wesens. 1905. H. 29; Chem. Zentralbl. 1905. II. 175, ferner ebendaselbst 1908. I. 2175.

[2]) *S. Axelrod*, Methode zur direkten Bestimmung des Kautschukgehaltes in Kautschukmischungen. Gummi-Zeitung. 21. 1229 (1908).

[3]) *G. Fendler* und *O. Kuhn*, Neue Studien über Kautschuk und Kautschukuntersuchung. Gummi-Zeitung. Dresden. 22. 132, 160, 215, 249 (1907). Aus dem pharmaz. Inst. d. Universität Berlin. Chem. Zentralbl. 1908. I. 491.

unter Umrühren mit 50 *cm*³ Tetrachlorkohlenstoff aufgenommen und 50 *cm*³ des Bromierungsgemisches hinzugegeben, dann 24 Stunden bedeckt stehen gelassen. Nun werden unter Umrühren 50 *cm*³ absoluten Alkohols hinzugefügt, das Tetrabromid abfiltriert, mit Tetrachlorkohlenstoff + Alkohol, dann mit Alkohol allein gewaschen, bei 50—60° getrocknet und gewogen. Erwähnt sei schließlich noch das für technische Zwecke ausreichende Alkaliverfahren, welches im wesentlichen darauf beruht, daß die Zellmembran durch Erhitzen mit starker Kalilauge aufgeschlossen wird, wobei der im getrockneten Ausgangsmateriale bereits koagulierte Kautschuk freiwillig austritt und sich schließlich auf der spezifisch schwereren Kalilauge ansammelt.[1])

Analyse der Guttapercha: Nach dem Verfahren von *Romburgh*[2]) wird 1 *g* der zu untersuchenden Guttapercha in einem 100 *cm*³ Meßkölbchen mit 80 *cm*³ Chloroform unter zeitweiligem Umschütteln ca. 1 Stunde am Rückflußkühler im Wasserbad erwärmt. Dann läßt man erkalten und füllt bis zur Marke mit Chloroform auf. Von der Mischung wird die Lösung schnell durch einen zuvor mit Chloroform ausgezogenen Wattepfropfen, der in das Rohr eines Trichters gesteckt ist, abfiltriert. Das Trichterrohr soll ca. 20 *cm* lang sein und einen lichten Durchmesser von 3 *mm* haben. Die ersten 50 *cm*³ des Filtrates bringt man in einen gewogenen weithalsigen Erlenmeyerkolben, dessen Inhalt etwa 200 *cm*³ beträgt. Dann destilliert man das Chloroform ab, wobei dafür gesorgt wird, daß der Rückstand als gleichmäßige Schicht an den Wandungen verteilt ist, und trocknet den in heißes Wasser gestellten Kolben in einem Strom trockener Kohlensäure. Das Gefäß wird nach dem Abkühlen gewogen. Die Gewichtszunahme des Kolbens gibt mit 2 multipliziert die Menge der in Chloroform löslichen Substanz. Die Differenz zwischen dem Gewicht der angewendeten Menge und dem der in Lösung gegangenen ist die mechanische Verunreinigung. Zur Bestimmung der Gutta, bzw. des Harzes wird das mit Inhalt gewogene Glaskölbchen dreimal am Rückflußkühler mit Azeton ausgekocht. Die Azetonlösung wird jedesmal abgegossen. Beim Kochen und beim Abgießen des Azetons ist darauf zu achten, daß die Masse sich nicht zu Klumpen zusammenballt, weil dadurch die Extraktion gehindert wird. Den Rückstand löst man wieder in Chloroform, um nochmals eine fest an der Wandung hängende dünne Schicht zu haben, und destilliert ab. Hiernach wird nochmals mit Azeton extrahiert, um sicher zu sein, daß alles Lösliche auch wirklich herausgenommen ist. Der nun verbleibende Rückstand wird im Kohlensäurestrom getrocknet und zur Wägung gebracht. Das Gelöste ist die Harzsubstanz und das Ungelöste die Gutta. Die Mengen werden mit 2 multipliziert auf das Ausgangsmaterial minus Wasser berechnet.

[1]) *Alexander* und *Bing,* Über die Gewinnung von Kautschuk aus getrockneten Kautschukpflanzen. Der Tropenpflanzer. 12. Jahrg. Nr. 2. — S. ferner das instruktive Werk von *R. Ditmar,* Die Analyse des Kautschuks etc. Wien 1908 und desselben Autors Sammelreferat in *E. Abderhaldens* Biochemischem Handlexikon. VII. 2. Berlin 1912.

[2]) *Lunge,* Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. 5. Aufl. 3. S. 366.

Das Sterilisieren lebender Pflanzen.

Von **Viktor Grafe**, Wien.

Keine ernährungsphysiologische Arbeit dürfte mit höheren Pflanzen ausgeführt werden können, wenigstens soweit es sich um organisches Nährsubstrat handelt, solange es nicht möglich ist, die Kulturen steril zu halten. Aber selbst in anorganischen Nährlösungen ist es auf die Dauer schwer, Infektion hintanzuhalten, da abgestoßene Wurzelanteile oder abgestorbene Pflanzenteile die Veranlassung zur Ansiedlung von Mikroorganismen geben.

Gerade die Aufzucht von normal autotrophen Pflanzen in Nährlösungen, denen organische Substanzen beigegeben sind, ist ein Problem, dem viele neue Beobachtungen und Fragestellungen erwachsen dürften. So habe ich es mit Rücksicht darauf, daß die Wurzeln der höheren Pflanzen ihre Nährstoffe dem Substrat in Ionenform entnehmen und mit Rücksicht auf die starke Herabsetzung der Giftwirkung von sonst toxischen Elementen in wenig dissoziierten Verbindungen versucht, die Bestandteile der normalen Nährlösungen bei höheren Pflanzen durch wenig oder gar nicht dissoziierte organische Verbindungen zu ersetzen, also z. B. KNO_3 durch Kaliumstereat und Äthylnitrat etc., aber wiewohl höchst interessante Erscheinungen auftreten (Bohnen wachsen z. B. ausgezeichnet in Schmierseife und bilden ein ganz merkwürdiges Wurzelsystem aus), konnten doch keine publikationsfähigen Resultate erhalten werden, da trotz aller Vorsichtsmaßregeln sehr bald Pilzinfektion und damit eine unkontrollierbare Veränderung der Nährlösung eintrat. Zu welchen Irrtümern mangelnde Sterilität der Pflanzenkulturen führt, beweist eine ausgedehnte Untersuchung von *Lefèvre*, welche die Lösung der Frage bezweckte, ob die Pflanzen auch bei vollständigem Mangel an Luftkohlensäure nicht nur ihren Stickstoffbedarf, sondern auch ihren ganzen Kohlenstoffbedarf aus Aminosäuren, wenn diese ihrem Nährsubstrat hinzugefügt werden, zu entnehmen imstande sind und ihre Gewebe damit aufbauen können. Auf Sterilhaltung der Kulturen wurde kein Gewicht gelegt, weil, wie *Lefèvre* ausführt, die verwendeten Aminosäuren und Säureamide bei Gärung und Fäulnis als letzte Produkte der Bakterientätigkeit auftreten, demnach kein Substrat ihres Stoff-

wechsels bilden könnten. Meine Nachprüfung[1]) dieser Untersuchungen, aus welchen *Lefèvre* den Schluß gezogen hatte, daß höhere Pflanzen bei Ausschluß von CO_2 ihren gesamten Kohlenstoff- und Stickstoffbedarf dem Aminosäurensubstrat entnehmen können, ergab, daß höhere Pflanzen in kohlensäurefreier Atmosphäre auch bei Vorhandensein von Aminosäuren zugrunde gehen, sobald ihre Reservestoffe aufgebraucht sind, vorausgesetzt, daß für möglichst sterile Kulturen gesorgt wird. In den Versuchen des französischen Forschers aber hatte das Moos, welches als Substrat benützt wurde, in seiner Atmung Kohlensäure abgegeben und Bodenbakterien hatten aus den Aminosäuren Ammoniak freigemacht, welche beiden dann von den grünen Keimlingen zum Aufbau ihrer Körpersubstanz verwendet worden waren.

In meinen Versuchen wurden die lufttrockenen Samen mit einer $1^0/_{00}$igen Sublimatlösung mit der Bürste gerieben, dann in sterilisiertem destillierten Wasser sorgfältig abgespült und dann in der bekannten *Hansen*schen Kammer auf Filtrierpapier keimen gelassen, das vorher in strömendem Dampf sterilisiert, steril in die Kammer gebracht und mit sterilisiertem Wasser befeuchtet worden war. Die Kulturgläser wurden im Dampftopf sterilisiert, mit Filtrierpapier umwickelt zur Kammer gebracht, von der Hülle befreit und rasch hineingeschoben. Drinnen wurden sie mit Organtin bespannt und mit der vorher bereiteten und sterilisierten organischen Lösung beschickt. Dann wurden nach Entfernung der Testa die Bohnen durch die Maschen gesteckt und nun möglichst rasch in die mit Sublimat gewaschene, völlig adjustierte und neben die Kammer aufgestellte Glocke gebracht. Nach jeder Sublimatwaschung muß natürlich sorgfältig mit sterilisiertem Wasser nachgespült werden. Zwischen Testa und Samen sitzen die Bakterienkeime besonders hartnäckig fest, es ist deshalb zweckmäßig, die abgezogenen Samenschalen sofort in ein innerhalb der Kammer befindliches Gefäß mit Sublimatwaschung zu werfen und die angekeimten, von der Testa befreiten Samen vor dem Hineinstecken in den Organtin noch einmal kurz in sterilisiertes Wasser zu tauchen und dort leicht mit Filtrierpapier abzureiben. Das Hantieren innerhalb der *Hansen*schen Kammer wird leicht und völlig steril durch eng an den Armen anliegende ziehharmonikaartige Kautschukmanschetten ermöglicht, die an den beiden seitlichen Fenstern der Kammer befestigt sind und durch welche die nackten Arme durchgesteckt werden, nachdem alles (Arme, Manschetten, Fenster etc.) gründlich mit Sublimatlösung und Bürste abgerieben wurde.

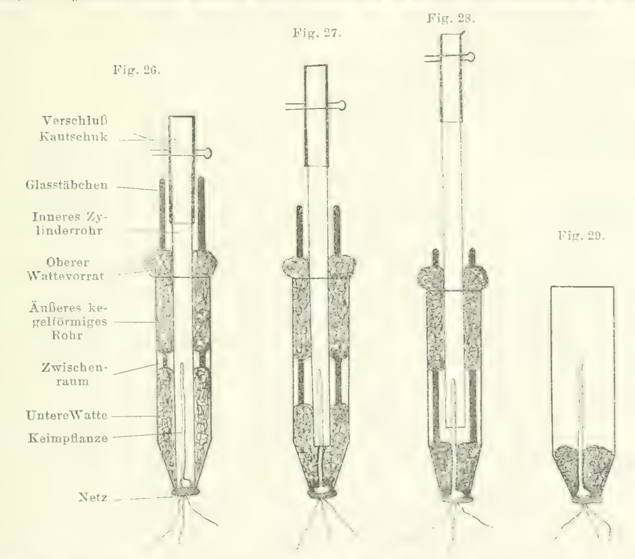
Durch den paraffinierten Kork der Kulturglocke ragt ein geräumiger Tropftrichter, der mit der sterilisierten Nährlösung beschickt wurde und statt des Glasstöpsels oben einen gedrehten, abgeflammten Wattepfropf trägt, wie er für die in der bakteriologischen Technik verwendeten Eprouvetten gebraucht wird. Statt der $1^0/_{00}$igen Sublimatlösung bewährt sich

[1]) *V. Grafe,* Untersuchungen über die Aufnahme von stickstoffhaltigen organischen Substanzen durch die Wurzel von Phanerogamen bei Ausschluß der Kohlensäure. Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Wien. **118** (1909).

besser eine 1%ige Bromlösung wegen ihrer stärkeren Desinfektionskraft und wegen des Umstandes, daß das verdunstende Bromgas auch den Luftraum der *Hansen*schen Kammer sterilisiert. Eine ähnliche Methodik wurde auch von *Grafe* und *von Portheim*[1]) mit Erfolg angewendet.

In neuerer Zeit hat sich *Iw. Schulow* der Frage angenommen, wie es möglich wäre, Kulturen steril zu erhalten, bei denen die Sprosse aus den Behältern normalerweise in der freien Luft sich entwickeln, wobei die Infektion des Substrates sehr leicht geschehen kann. Ich gebe im folgenden *Schulows* Schilderung der Methode wieder[2]):

Hohe Glaszylinder (Fig. 26—29) enthielten je 7 l recht verdünnter Nährlösung. In jedes Gefäß wurde oben dicht auf Watte ein Holzdeckel mit einge-



bohrten (je zwei großen und zwei kleineren) Öffnungen hineingedrängt. Diese Rundplatte adhärierte an den Gefäßwandungen vermittelst dreier daselbst eingeschraubter Häkchen. In die breiten Öffnungen wurden alsdann auf Watte (zu je zwei auf ein Gefäß) zylindrisch kegelförmige Röhrchen (siehe die schematische Abbildung) hineingesteckt, während in die eine der engen Öffnungen ein langes Glasröhrchen eingeführt wurde, das fast bis an den Boden des Gefäßes reichte und von außen mit einem großen Pfropfen aus Watte und Abzweigungen versehen war, während die andere Öffnung

[1]) *V. Grafe* und *L. v. Portheim,* Untersuchungen über die Rolle des Kalkes in der Pflanze. Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Wien. **115** (1906).

[2]) *J. Schulow,* Zur Methodik steriler Kultur höherer Pflanzen. Ber. d. deutschen bot. Ges. **29**. 504 (1911).

ein kurzes Röhrchen trägt Das lange Rohr dient zum Ausblasen der Luft, seine Abzweigung zur Entnahme von Proben des Substrates vor Abbruch des Versuches, um die Sterilität festzustellen. Das kurze Röhrchen läßt die Verbindung mit dem kleinen Kolben herstellen, in dem sterilisiertes Wasser oder Nährlösung sich befindet, die so steril in das Kulturgefäß gebracht werden können. In das zylindrisch kegelförmige Röhrchen, das unten mit einem Netz umbunden wurde, trat bis zu letzterem ein etwas längeres zylindrisches Glasröhrchen, um das sterilisierte und gequollene Samenkorn aufzunehmen. In den unteren Teil des äußeren Rohres bis zur Höhe von 7—8 *cm* vom Netz wurde Watte in kleinen Bäuschchen untergebracht, welche nicht allzu stark zusammengedrückt wurde. Oberhalb dieses Vorrates von Watte wurde ein (ca. 1 *cm*) Zwischenraum belassen, durch den das innere Rohr sichtbar wurde, und noch höher, bis zum Ende des breiten Rohres, befand sich ein kompakter Pfropfen aus Watte, in welchen bis zur unteren Watte drei Glasstäbe eingelassen wurden, die nach oben so weit hervorragten, daß man nachträglich mit ihnen möglichst gut die untere Watte verdichten konnte.

Die dergestalt montierten Behälter (überdies noch von oben mit einer genügenden Schicht Watte bedeckt) wurden dreimal jedesmal 2 Stunden lang vermittelst Dampfes bei 100° sterilisiert, alsdann mit speziellen Samensterilisatoren verbunden, mit deren Hilfe die Körner mittelst Bromwasser 20 Minuten sterilisiert, ausgewaschen und gequollen, in das innere zylindrische Röhrchen eingeführt wurden.

Am 8. bis 10. Tage vom Beginn des Hervortreibens der oberirdischen Teile des Keimlings an erheben sich dieselben innerhalb dieses Röhrchens und gelangen in den Zwischenraum inmitten des Vorrates von sterilisierter Watte ober- und unterhalb des breiten äußeren Rohres. In diesem Moment fand die Befreiung des Keimlings statt, und zwar folgendermaßen: Allmählich, zu $^1/_2$ *cm* auf einmal, wurde das innere zylindrische Röhrchen emporgehoben und nach jeweiligem Emporheben die untere Watte möglichst stark mit den Glasstäben festgedrückt. Der große Vorrat an Watte des zylindrischen Teiles im breiten Rohr wurde auf diese Weise in die sich verengende halbkegelförmige Abteilung gedrängt und möglichst vollkommen zur Ausfüllung derselben, sowie als Hülle für Samen und Sproß ausgenützt. Diese Manipulation kann bequem und gründlich durchgeführt werden, da ja oberhalb sowohl die Stäbchen als auch die obere Watte allezeit sterilisiert verblieben. Durch den Zwischenraum konnte bequem der Gang der Verdichtung beobachtet werden. Sobald die Schicht der unteren Watte nicht gehörig hoch erschien, konnte man sie aus dem oberen Vorrat ergänzen (mit dem Stäbchen wurden Flocken aus dem letzteren losgerissen und an die untere Watte gezwängt). Sobald sämtliche Beobachtungen dafür sprechen, die man durch den Zwischenraum vornehmen kann, daß der Keimling zuverlässig mit Watte umhüllt sei, wird das innere Röhrchen sowie der Rest des oberen Wattevorrates entfernt. Auf der beigefügten schematischen Abbildung (Fig. 26—29) sind einige Stadien dieser Operation

skizziert. Zeichnung 26 zeigt die integrierenden Details der Geräte und auch, daß der Keimling durch den Zwischenraum nach Befreiung verlangt. Zeichnung 29 zeigt den völlig befreiten Keimling, während 27 und 28, verschiedene Übergangsstadien darstellend, die Entfernung des inneren zylindrischen Röhrchens neben gleichzeitiger allmählicher Verdichtung der unteren Watte veranschaulichen, wobei die Stäbchen zum Einhüllen des Keimlings in Watte benützt werden. Das Resultat der Sterilität beträgt 75%.

Eine andere Methode ist für Wasserpflanzen von *G. Pollacci* ausgearbeitet und beruht auf der relativen Unempfindlichkeit grüner Pflanzen gegenüber H_2O_2, welches niedere Organismen stark schädigt. Bevor die Beschreibung der einfachen Apparatur vorgenommen wird, sei darauf hingewiesen, daß sich auch gasförmiger Formaldehyd zur Sterilisierung grüner Pflanzen eignen dürfte, da derselbe bei intensiv bakteriziden Eigenschaften von höheren Pflanzen in Konzentrationen von 0·1 Volumprozenten vertragen wird[1]), wofern absolut reiner Formaldehyd angewendet und für sorgfältigen Abschluß der Kulturerde oder Nährlösung vor dem Eindringen des Gases gesorgt wird. Freilich erscheinen die enzymatischen Leistungen so behandelter Pflanzen nicht ungeändert[2]), die Pflanzen also, obwohl nicht geschädigt, doch nicht mehr normal.

Bach und *Chodat* machten die Beobachtung[3]), daß entgegen der Anschauung von *O. Loew*, reines Wasserstoffsuperoxyd, wenn es nicht allzu stark konzentriert ist, für das lebende Protoplasma kein Gift vorstellt. Setzt man eine höchstens 1%ige H_2O_2-Lösung einer Salpeterlösung zu, so erzeugt diese normale Plasmolyse. Dagegen übt Wasserstoffsuperoxyd auf Mikroorganismen noch in großer Verdünnung sehr schnell vernichtende Wirkung aus. Untersucht wurden Wasserpflanzen wie Lemna, Salvinia, Azolla, Nymphaea etc., die zum Teil sehr zarte Wurzeln besitzen. Die Pflanzen können für kurze Zeit ganz untergetaucht und dann mit sterilisiertem Wasser nachgewaschen werden. Bei den Versuchen wurde je eine der gebadeten Pflanzen in eine entsprechende Nährlösung, die andere in sterile Gelatine gebracht, wobei einerseits die vollkommene Sterilisation, andrerseits die voll erhaltene Lebensfähigkeit der Pflanze sich zeigte. Der Grad der Konzentration des zu verwendenden H_2O_2 und die Dauer der Sterilisation hängen natürlich von der Art der Pflanze ab. Der verwendete einfache Apparat ist folgender (Fig. 30):

Ein Gefäß *A* von sterilisiertem Glas mit einigen Litern Fassungsraum mit einem oberen und einem unteren Tubus ist mit sterilisiertem

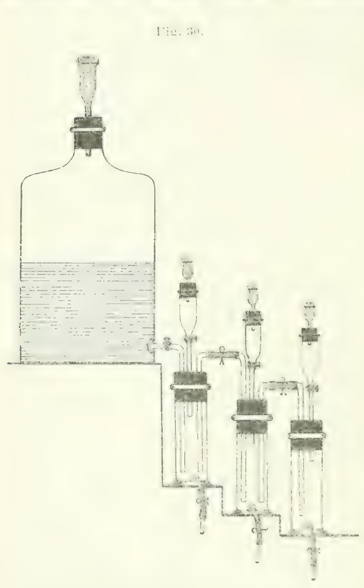
[1]) *V. Grafe* und *L. v. Portheim*, Orientierende Untersuchungen über die Einwirkung von gasförmigem Formaldehyd auf die grüne Pflanze. Österr. bot. Zeitschr. 1909. — *V. Grafe* und *Emmy Vieser*, Untersuchungen über das Verhalten grüner Pflanzen zu gasförmigem Formaldehyd. I. Ber. d. deutschen bot. Ges **27**. 431 (1909). — *V. Grafe*, Untersuchungen über das Verhalten grüner Pflanzen zu gasförmigem Formaldehyd. II. Ber. d. deutschen bot. Ges. **29**. 19 (1911).

[2]) *V. Grafe*, Die biochemische Seite der Kohlensäureassimilation durch die grüne Pflanze. Biochem. Zeitschr. **32**. 114 (1911).

[3]) *Bach* und *Chodat*, Ber. d. deutschen chem. Ges. **35**. 1275, 2466 (1902).

Wasser gefüllt, mit dem die erste Waschung vorgenommen wird. Der obere Tubus trägt sterilisierte Watte, der andere vermittelt die Verbindung mit einem andern Gefäß *B* durch eine bis auf den Boden von *B* reichende Röhre, die den Zulauf besorgt, während der Ablauf in die nächsten Gefäße *C* und *D* auf dieselbe Weise geschieht. Jedes dieser Gefäße trägt in einer dritten Bohrung ein Glasrohr, das auch wieder sterilisierte Watte trägt, so daß die Luft, ohne Keime mitzuführen, die Gefäße passieren kann. In das zweite Gefäß *B* — die Gefäße sind, wie man sieht, stufenförmig angeordnet — kommt das zu sterilisierende Pflanzenmaterial. Man läßt nun den Strom des sterilisierten Wassers durch Öffnen des Hahnes aus dem großen Gefäß durch die übrigen laufen, die Pflanzen können so hinlänglich gewaschen werden, ohne mit der äußeren Luft in Berührung zu kommen. Unter Benützung eines genügend weiten Abflußrohres kann man die kleinen Pflanzen, welche gut gewaschen worden sind, direkt aus *B*, ohne dieses Gefäß zu öffnen, herausspülen. Das Material kann so nach *C* gebracht werden, welches Gefäß zum eigentlichen Waschen mit H_2O_2 bestimmt ist. Vorher wird durch den Schlauch am unteren Tubus von *C* das Wasser herausgelassen und statt dessen durch ein mit Hahn versehenes Trichterrohr von oben die Wasserstoffsuperoxydlösung zugeführt, mit dem Pflanzenmaterial eine bestimmte Zeit in Kontakt gelassen, um dann ebenso wie früher das Wasser durch den unteren Tubus entfernt zu werden. Nun wird wieder aus *A* mit reichlichen Mengen sterilisierten Wassers nachgewaschen. Aus *C* gelangen die Pflanzen auf dieselbe Weise wie früher nach *D*; dort wird das Wasser abgelassen und ebenso wie früher das Wasserstoffsuperoxyd nach *C*, so wird hier die Nährlösung eingefüllt. *D* wird dann steril abgelöst und dient direkt als Kulturgefäß. Salvinia verträgt eine 45 Minuten dauernde Behandlung mit 3%iger H_2O_2 und noch 30 Minuten mit 3·6%igem, Lemna major 45 Minuten mit 1·8%igem und 5 Minuten mit 3·3%igem, aber nicht mehr mit 3·6%igem H_2O_2.

Fig. 30.



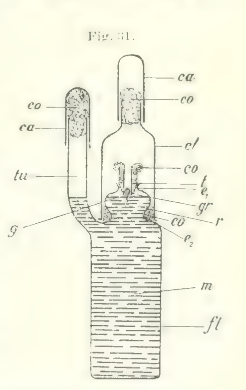
Apparat zum Sterilisieren lebender Wasserpflanzen. Nach *Pollacci*.

R. Combes (Comptes rendus de l'Académie des sciences, T. **154**, 891 [1812]) gibt folgende Methode an, die der von *Schulow* ähnelt: Die Samen

werden in 1⁰/₀₀igem Sublimat gewaschen und nach dem Abspülen mit Wasser in sterilisierten Eprouvetten auf feuchter Watte zum Keimen ausgelegt. Sowie das Keimen begonnen hat, wird je ein Samen in das im folgenden zu beschreibende Gefäß gebracht:

Ein Glasgefäß mit abgerundeten Ecken (Fig. 31) besitzt einen seitlichen Tubus *tu* und endigt mit dem ausgebauchten Tubus *r*, der bei e_2 und e_1 eingeschnürt ist. Die eingeschnürte Partie bei e_1 ist von dem übrigen Gefäß durch die Einschnürung e_2 abgetrennt. In den Hals des Tubus bei e_1 wird ein zylindrisches Glasrohr *t* eingeführt, das vorher in einem Wattebausch so eingehüllt worden ist, daß es gerade noch in den Tubus eingedreht werden kann. Die untere Öffnung des in den Tubus eingeführten Glasrohres ist vorher mit einem weitmaschigen Organtin überspannt worden. Auch in die Einschnürung e_2 wird sterilisierte Watte eingeführt. Die obere Öffnung der Glocke *cl*, welche jetzt über den Tubus so gestülpt wird, daß sie vermittelst der bei e_2 eingeführten Watte eng aufsitzt, wird ebenso wie die obere Öffnung des seitlichen Tubus mit sterilisierter Watte verschlossen, wie das bei den Kultureprouvetten der bakteriologischen Technik üblich ist. Darüber wird dann noch das Glas *ca* gestülpt. Jeder solche kleine Apparat wird nach seiner Montierung eine halbe Stunde bei 150⁰ C sterilisiert. Das vorher sterilisierte flüssige Kulturmedium der höheren Pflanze wird nun steril beim seitlichen Tubus so eingefüllt, daß der die untere Öffnung von *t* verschließende Organtin benetzt ist. Nachdem man sich durch mehrtägiges Stehen des adjustierten Apparates und eventuell zur bakteriologischen Prüfung entnommene Probe überzeugt hat, daß alles steril ist, wird der angekeimte Samen *gr* aseptisch auf die Organtinunterlage des Apparates gebracht, wo nun die weitere Entwicklung erfolgt. Die junge Wurzel dringt in die sterile Nährlösung, der Sproß in den Luftraum von *t*. Nachdem der Sproß hinreichende Länge erreicht hat, wird die Röhre *t* mit einer abgeflammten Pinzette langsam herausgezogen und in dem Maße, als sie sich heraushebt, sinkt die umgebende Watte tiefer und umgibt schließlich von selbst den sich erhebenden Sproß. Man muß nur rings um denselben die Watte mit der abgeflammten Pinzette zurechtdrücken und ausbreiten. Auf diese Weise kommt die Wurzel im sterilen Nährmedium *m*, das sich in *fl* befindet, der oberirdische Teil der Pflanze in freier Luft zur Entwicklung.

Fig. 31.



Apparat zur sterilen Pflanzenkultur. (Nach *E. Combes.*)

Darstellung, Untersuchung, Nachweis und Analyse der Gerbstoffe.[1]

Von **M. Nierenstein**, Bristol.

I. Darstellung.

Im Anschluß an die früher beschriebenen Reinigungsmethoden des Tannins seien noch folgende Verfahren erwähnt.

1. Reinigungsmethode nach *Walden.*[2] 5 *g* Tannin werden in 5 *cm*³ 95%igem Alkohol gelöst, hierauf 100 *cm*³ wasserfreier Gärungsisoamylalkohol zugegeben und zu der filtrierten Mischung 70 *cm*³ Petroläther (Siedepunkt 43°) hinzugefügt. Die ausgeschiedenen schmutziggrauen gefärbten Flocken werden durch Filtrieren entfernt und das Filtrat abermals mit 40 *cm*³ Petroläther vermischt. Der ausgeschiedene flockige Niederschlag, der gewöhnlich weiß ausfällt, wird abfiltriert und das Filtrat sechsmal mit je 30 *cm*³ Petroläther fraktioniert gefällt. Man erhält so 6 Fraktionen.[3]

2. Reinigungsmethode von *Rosenheim* und *Schidrowitz.*[4] 100 *g* Tannin werden in 500 *cm*³ wasserfreiem Alkohol gelöst und zur Lösung 1 *l* wasserfreien Äthers hinzugesetzt. Die ausgeschiedenen braunen Flocken werden abfiltriert und das Filtrat mit 100 *cm*³ Wasser versetzt, geschüttelt und das in die wässerige Lösung übergegangene Tannin nach dem Abscheiden zweimal mit je 600 *cm*³ Äther behandelt. Nach dem Abscheiden der tanninhaltigen, wässerigen Schicht werden zu derselben 800 *cm*³ Äther und 1 *l* Wasser zugegeben und kräftig geschüttelt. Nach dem Über-

---

[1]) Vgl. *M. Nierenstein,* Darstellung und Nachweis der Gerbstoffe. Dieses Handbuch. 2. 996 (1910).

[2]) *P. Walden,* Über die vermeintliche Identität des Tannins mit der α-Digallussäure. Ber. d. deutschen chem. Ges. **31**. 3167 (1898).

[3]) Vgl. hierzu *Leo F. Iljin,* Über die Zusammensetzung des Tannins. Ber. d. deutschen chem. Ges. **42**. 1731 (1909). — *W. Steinkopf* und *J. Sargarian,* Über die Zusammensetzung des Tannins. Ibid. **44**. 2904 (1911). — *Leo F. Iljin,* Über die Zusammensetzung des Tannins. Ibid. **44**. 3318 (1911).

[4]) *O. Rosenheim* und *P. Schidrowitz,* The optical activity of gallotannic acid. Journ. chem. Soc. **73**. 878 (1898). — Dieselben, The influences modifying the specific rotatory power of gallotannic acid. Ibid. **73**. 885 (1898).

führen der Mischung in den Scheidetrichter werden 3 Schichten erhalten: die untere sirupöse Schicht liefert im Vakuum über Schwefelsäure eingedampft 53—60 *g* reines, fast weißes Tannin. Eine Wiederholung des Reinigungsprozesses ist zu empfehlen.[1])

3. Reinigungsmethode nach *Iljin.*[2]) 10 *g* Tannin werden in 30 *cm*³ 95⁰/₀igem Alkohol gelöst, zur Lösung 500 *cm*³ wasserfreier Essigäther und 500 *cm*³ entwässerter Äthyläther gegeben und diese Mischung mit 800 *cm*³ Chloroform versetzt. Die gebildeten hellbraunen Flocken, welche sich in kleiner Menge abscheiden, werden abfiltriert; das Filtrat scheidet auf Zusatz von 300 *cm*³ Chloroform weißliche Flocken ab, die abermals durch Filtrieren von der Flüssigkeit getrennt werden. Auf Zusatz von weiteren 500 *cm*³ Chloroform erhält man einen weißen flockigen Niederschlag, der trocken 7—8 *g* wiegt. Die erhaltene Substanz wird nochmals unter Einhaltung der angeführten Mengenverhältnisse der Lösungs- und Fällungsmittel der Fraktionierung unterworfen, wobei 6—7 *g* eines Präparates erhalten werden. Eine weitere Reinigung wie oben gibt 3—4 *g* reines Tannin.[3])

4. Reinigungsmethode nach *Nierenstein.*[4]) Je 10 *g* Tannin, bei 100⁰ getrocknet, werden mit absolutem Äther *(Grinard)* geschüttelt und filtriert, wobei ein harziger Rückstand, der 1·8—2·7 *g* wiegt, zurückbleibt. Das Filtrat wird mit Äther auf 100 *cm*³ nachgefüllt und mit 180 *cm*³ über Chlorkalzium 4 Monate lang getrocknetem Chloroform in vier Portionen versetzt. Jede Fraktion wird getrennt gesammelt, mit viel Petroläther gewaschen und im Leuchtgasstrom getrocknet.[5, 6])

---

[1]) Vgl. *L. F. Iljin*, l. c. *W. Steinkopf* und *J. Sargarian*, l. c. *Ramni Paniker* und *Edmund Stiasny*, The acid character of gallotannic acid. Journ. chem. Soc. **100**. 1819 (1911).

[2]) *L. F. Iljin*, l. c.

[3]) Vgl. *W. Steinkopf* und *J. Sargarian*, l. c.

[4]) *Nierenstein*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. IX. Mitt. Annalen der Chemie. 388. 244 (1912).

[5]) Erwähnt sei auch die schon zitierte Arbeit von *Paniker* und *Stiasny*. Diese Forscher reinigen ihr Tannin über das Natriumsalz, geben aber keine genauen Angaben. Ich enthalte mich eines Urteils über diese Methode, die mit meinen Erfahrungen beim Tannin nicht im Einklang steht.

[6]) Das nach diesen Methoden gereinigte Tannin ist allem Anschein nach kein einheitliches Produkt. (Vgl. *Nierenstein*, Chemie der Gerbstoffe. S. 35 und Zur Konstitutionsfrage des Tannins. IX. Mitt. Annalen der Chemie. 388. 243 [1912].) In diesen Arbeiten habe ich die verschiedenen Untersuchungen von 1812—1912 berücksichtigt. Wie meine Untersuchungen ergeben haben, handelt es sich beim Handelstannin um ein Gemenge, das aus Polydigalloylleukodigallussäureanhydrid (Tannin), Polydigalloylleukodigallensäure, Digallussäure, Leukodigallussäure und Gallussäure besteht. Nach *Emil Fischer* und *K. Freudenberg* (Über das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe. Ber. d. deutschen chem. Ges. 45. 917. [1912]) ist der Hauptbestandteil des Tannins die Penta-digalloyl-glucose, $C_6H_7O_6[C_6H_2(OH)_3 . CO . O . C_6H_2(OH)_2 . CO]_5$. Sie sind ferner der Meinung, daß das Tannin nicht homogen sei und haben sie für einige Handelsprodukte mit Sicherheit Gallussäure in wechselnder Menge erhalten. Bezüglich des Zuckergehaltes des Tannins vgl. ferner *Nierenstein*, Chemie

5. Reinigungsmethode nach *E. Fischer* und *Freudenberg.*[1]) 50 *g* Tannin werden im Scheidetrichter mit 50 *cm*³ Wasser angerührt, mit Essigäther überschichtet und unter Umrühren mit so viel $\frac{2}{n}$ Natronlauge versetzt, daß die Flüssigkeit gegen rotes Lackmuspapier eben deutlich alkalisch reagiert. Jetzt wird schnell die Lösung 5mal mit je 80 *cm*³ frisch destilliertem Essigäther ausgeschüttelt, die vereinigten Auszüge 3—4mal mit je 100 *cm*³ gewaschen, dann unter vermindertem Druck bis zur Sirupkonsistenz eingedampft und schließlich zur völligen Entfernung des Essigäthers der Rückstand wieder in 100 *cm*³ Wasser gelöst [2]) und abermals unter 15—20 *mm* Druck eingedampft. Es bleibt dabei ein honiggelber Sirup, der in eine Schale gegossen und im Vakuumexsiccator schließlich über Phosphorpentoxyd getrocknet wird. So gewinnt man das Tannin als spröde, sehr helle, amorphe Masse.

Für die Gewinnung von Sumachgerbsäure [3]) und auch der Knopperngerbsäure [4]) habe ich mit gutem Erfolg die Extraktion mittelst Azeton verwandt. Auch bei der Hemlockgerbsäure [5]) eignet sich dieses Extraktionsverfahren. Die so gewonnenen Gerbstoffe lassen sich durch Karboäthoxylieren und Verseifen reinigen.[6]) Nach dieser Methode habe ich die Ellagengerbsäure und Guaranagerbsäure in schönen Nadeln erhalten.[7,8]) 10 *g* Myrabolanen-Ellagengerbsäure — nach *Löwe*[9]) dargestellt — und dann durch Dialysieren gegen viel Wasser gereinigt, werden in 150 *cm*³ $\frac{2}{n}$ Kalilauge durch längeres Schütteln gelöst, filtriert und mit 8 *g* chlorameisensaurem Äthyl in zwei Portionen versetzt (lebhaftes Schütteln!). Nachdem der stechende Geruch des Esters verschwunden ist, werden weitere 75 *cm*³ $\frac{2}{n}$ Kalilauge und 4 *g* chlorameisensaures Äthyl hinzugefügt. Man hat durch letzteres im Überschuß und sein charakteristischer Geruch verschwindet erst in 3—4 Stunden. Hierauf wird mit verdünnter Salzsäure angesäuert und filtriert. Erwärmt

---

der Gerbstoffe. Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge (*Ahrens-Herz'* Sammlung. **15**. 251—253. [1910]) und auch *Nierenstein* und *R. J. Manning*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. X. Mitt. Ber. der deutschen chem. Ges. **45**. 1546 (1912).

[1]) *Emil Fischer* und *K. Freudenberg*, Über das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe. Ber. d. deutschen chem. Ges. **45**. 915 (1912).

[2]) *Emil Fischer* und *K. Freudenberg*, l. c. S. 920. Vgl. auch *H. Thoms*, Zur Gerbstofforschung. Ber. d. deutschen pharm. Ges. **15**. 303 (1905).

[3]) *Nierenstein*, noch nicht veröffentlicht.

[4]) *Nierenstein* und *Jan Jedlička*, noch nicht veröffentlicht.

[5]) *Nierenstein* und *R. J. Manning*, noch nicht veröffentlicht.

[6]) Vgl. *Nierenstein*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. VII. Mitt. Ber. d. deutschen chem. Ges. **43**. 628 (1910).

[7]) *Nierenstein*, Beitrag zur Kenntnis der Gerbstoffe. III. Über Ellagengerbsäure. Ber. d. deutschen chem. Ges. **43**. 1267 (1910).

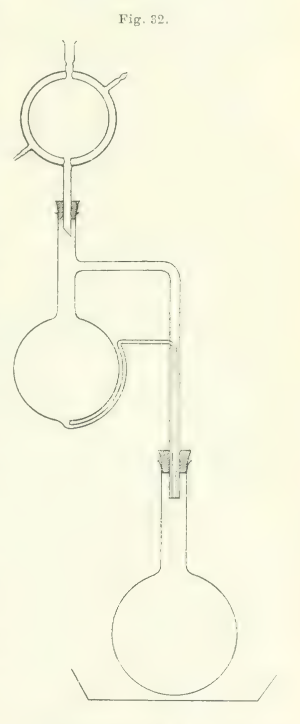
[8]) *Nierenstein*, noch nicht veröffentlicht.

[9]) *J. Löwe*, Über die Gerbsäure der Myrabolanen und ihre Identität mit der Ellagengerbsäure. Zeitschr. f. analyt. Chem. **14**. 44 (1875).

man den Niederschlag mit Pyridin — es empfiehlt sich, das Pyridin mit Wasser (1:2) zu verdünnen — so scheidet sich unter lebhafter Kohlensäureentwicklung die freie Säure aus. Es empfiehlt sich, die Carbäthoxylierung 2—3mal zu wiederholen. Die so gereinigte Säure kristallisiert aus Pyridin und Essigsäure[1]) (1:1) in schwach gelblich gefärbten Nadeln, die zwischen 329—336° schmelzen.

Für die Gewinnung der Sumachgerbsäure wie auch der Knopperngerbsäure habe ich mich des umstehenden Extraktionsapparates (Fig. 32) bedient. Die Sumachblätter werden zuerst mittelst Äther oder Tetrachlorkohlenstoff und dann mit Azeton heiß extrahiert. Aus dem Azetonextrakt gewinnt man dann den Gerbstoff durch Fällen mit Äther. Die Ätherextraktion entfernt das Chlorophyll der Blätter.[2]) Für die Knopperngerbsäure empfiehlt es sich, die Knopperngallen mittelst Benzol oder Tetrachlorkohlenstoff zu extrahieren. Die Knoppern enthalten ähnlich den Gallen verschiedene aliphatische Säuren und Fette[3]), von denen sie vor der Extraktion gründlich befreit werden müssen.

Fig. 32.



[1]) Die Krystallisation aus Pyridin und Essigsäure habe ich auch bei der Luteosäure, und zwar mit einem sehr bedauerlichen Erfolg verwandt [vgl. *Nierenstein,* Über Luteosäure. (Berichtigung.) Ber. d. deutschen chem. Ges. **45.** 365 (1912) und *Nierenstein,* Zur Konstitutionsfrage des Tannins. IX. Mitt. Annalen der Chemie. **388.** 240 (1912)]. Vier verschiedene Präparate, die aus den Jahren 1908, 1909, 1910 und 1911 stammen, gaben für bei 160° getrocknete Präparate 51·0% C, bei 240° getrocknet 52·70% C. Die Luteosäure $C_{14}H_8O_9$ verlangt C = 52·50, dieser Umstand sprach allem Anscheine nach gegen meine Auffassung dieser Säure als Pentaoxybiphenylmethylolid. Wie wir (*Nierenstein* und *Jan Jedlička*, noch nicht veröffentlicht) nun finden, so gelingt die Krystallisation der Luteosäure auch aus viel Alkohol. Man erhält so ein Produkt, das auch beim Trocknen bei 160° auf $C_{14}H_8O_9$ gut stimmende Werte gibt. Worauf dieses Verhalten des Gemisches Pyridin- und Essigsäure zurückzuführen ist, kann ich unmöglich erklären, doch ist seine Verwendung nicht zu empfehlen.

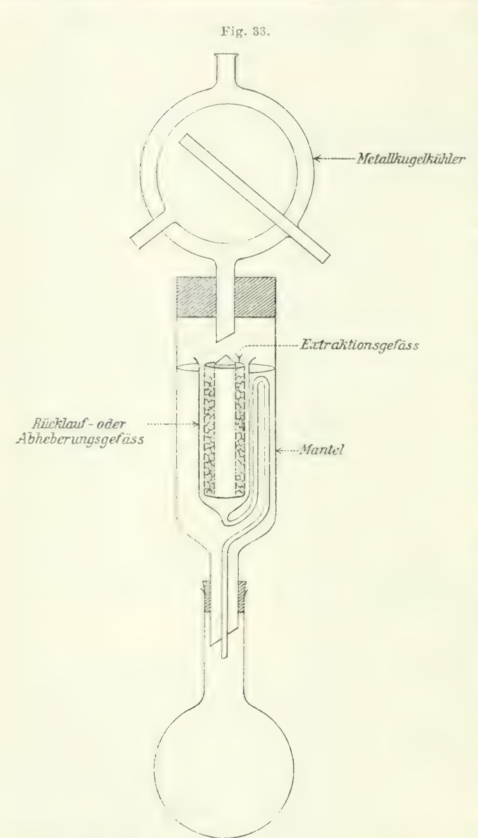
[2]) Vgl. *B. Geschwender,* Beiträge zur Gerbstofffrage usw. Diss. Erlangen (1906).

[3]) Vgl. *H. Kunz-Krause* und *P. Manicke,* Über einige Salze der Gallipharsäure, einer durch Oxydation aus der Cyclogallipharsäure erhältlichen Fettsäure. Archiv d. Pharm. **248.** 249 (1910). — Dieselben, Über den Abbau von Cyclogallipharsäure durch Oxydationsmittel. Ibid. **248.** 398 (1910). — *P. Manicke,* Weitere Beiträge zur Kenntnis der Abbauprodukte der Cyclogallipharsäure. Diss. Basel (1910). (Literatur!)

Für die Gewinnung des Birnengerbstoffes verfuhr *W. Kehlhofer*[1]) folgendermaßen:

Der möglichst gerbstoffreiche klare bzw. geklärte Birnsaft wurde mit Kochsalz im Überschuß — auf 1 *l* Saft etwa 350 *g* Salz — versetzt, in einer Flasche bei Zimmertemperatur so lange kräftig geschüttelt, bis kein Kochsalz mehr in Lösung ging. Der entstandene Niederschlag wurde auf eine Nutsche gebracht und hierauf noch in einer kleinen Handpresse vom Saft möglichst befreit. Durch feines Verreiben mit gesättigter Kochsalzlösung und Wiederholung genannter Operationen, bis an die gesättigte Kochsalzlösung keine organische Substanz mehr abgegeben wurde, gelang es, Zucker, Säuren und andere lösliche Extraktstoffe völlig zu entfernen. In der Regel genügt eine dreimalige Behandlung, um diesen Zweck zu erreichen. Der Preßrückstand, von bröckliger Beschaffenheit, den wir der Kürze wegen als „feuchten Rohgerbstoff" bezeichnen möchten, war von heller, bräunlichgelber Farbe und besaß einen, an unreifes Obst erinnernden Geruch und salzig-herben Geschmack. Er ließ sich ziemlich leicht zu einem gröblichen Pulver zerreiben und wurde auf Filtrierpapier ausgebreitet, in Kohlensäureatmosphäre bei ca. 50° getrocknet („Trockener Rohgerbstoff"). In diesem Zustand läßt sich das

Fig. 33.



[1]) *W. Kehlhofer*, Beiträge zur Kenntnis des Birnengerbstoffes und seiner Veränderung bei der Obstweinbereitung. Beilage zu den Mitteilungen des schweizerischen Landwirtschafts-Departement. 1910.

Pulver in gut verschlossenem Gefäß längere Zeit fast unverändert aufbewahren und kann dann beliebig weiter in Verarbeitung genommen werden.

Diese bestand zunächst in einer Extraktion des Pulvers mit absolutem Alkohol in der Hitze. Zur Durchführung dieser Operation benutzte *Kehlhofer* den obenstehenden im Durchschnitt gezeichneten Apparat (Fig. 33). In das innere, zylindrische, mit seitlichen Löchern versehene Extraktionsgefäß, dessen Innenwandungen mit Filtrierpapier ausgekleidet waren, kam der zu extrahierende trockene Rohgerbstoff, während das über freier Flamme erhitzte Kochgefäß (aus Jenaer Glas) mit einer zur Extraktion ausreichenden Menge an absolutem Alkohol (und einigen Glasperlen) beschickt wurde. Zur Kondensation der zwischen äußerem (Mantel *e*) und mittlerem Gefäß (Rücklauf- oder Abheberungsgefäß *b*) emporstreichenden Alkoholdämpfe diente ein Metallkugelkühler (*d*), der vermittelst eines Kautschukpfropfens luftdicht auf den Mantel des Extraktionsapparates aufgesetzt war. Der kontinuierlich arbeitende Apparat erwies sich sehr leistungsfähig und bot gegenüber einem aus Metall konstruierten den Vorteil, daß nicht nur jede Berührung der alkoholischen Gerbstofflösung mit Metallteilen ausgeschlossen war, sondern auch der Extraktionsvorgang in allen Teilen übersehen und überwacht werden konnte. Von dem auf vorstehende Art erhaltenen alkoholischen Extrakt wurde der Alkohol durch Destillation bei vermindertem Druck zum größeren Teil übergetrieben und der so eingeengte, braungefärbte Auszug mit Äther fraktionsweise gefällt. Die erste, hauptsächlich aus in Wasser unlöslichen, phlobophenartigen Körpern bestehende Fällung wurde beseitigt und desgleichen die dritte, mit Kochsalz mehr oder weniger verunreinigte Ausscheidung. Die mittlere Fraktion wurde rasch filtriert, mit Äther mehreremal ausgewaschen, in wenig Alkohol gelöst, mit neuem Äther gefällt und diese Operation so oft wiederholt, bis das Produkt als genügend rein angesehen werden konnte, was dann angenehm war, wenn sich dasselbe einerseits in Wasser rasch und vollkommen auflöste und andrerseits beim Erhitzen auf dem Platinblech keinen Rückstand von (Kochsalz) mehr hinterließ.

Kehlhofer erhielt so den Birnengerbstoff als ein bräunlich gelbes, geruchloses, herb schmeckendes, spezifisch leichtes Pulver, das sich in Alkohol und Wasser mit schön rotbrauner Farbe auflöste.

II. Untersuchung.

Bei dem jetzigen Stand der Gerbstoffchemie läßt es sich nicht einstweilen von allgemeinen Arbeitsmethoden sprechen. Ich führe daher hauptsächlich die von mir beim Tannin angewandten Methoden an.[1]

[1] *Nierenstein*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. Mitt. I—X. Ber. d. deutschen chem. Ges. **38**. 3641 (1905); **40**. 917 (1907); **41**. 77. 3015 (1908); **42**. 1122. 3552 (1909); **43**. 628 (1910). **45**. 1546 (1912). Annalen der Chemie. **386**. 318 (1912); **388**. 223 (1912). — Derselbe, Über das Tannin. Chemikerzeitung. **31**. 72 (1907). — Derselbe, Über das Drehungsvermögen des Tannins. Ibid. **34**. 15 (1909). — *Francis* und *Nierenstein*, Über die Einwirkung von Benzoylchlorid und Cyankalium auf Benzoyloxybenzoesäuren und azylierte Oxybenzoyloxybenzoesäuren. Annalen der Chemie. **382**. 194 (1911).

A. Untersuchung des Tannins auf seinen Zuckergehalt.

Ich habe das Tannin auf seinen Zuckergehalt durch Hydrolyse mittelst Alkali[1]) und Schwefelsäure untersucht. 250 *cm*³ einer 5%igen Tanninlösung werden für 2 Stunden mit Wasserstoff gesättigt und mittelst Tropftrichters, der auch mit Wasserstoff gefüllt ist, 25 *cm*³ $\frac{1}{10}$ n-KOH hinzugefügt. Man arbeitet im größeren Kolben (1000 *cm*³) mit dreifach durchbohrtem Kork, der mit einem Rückflußkühler, Tropftrichter und Wasserstoffrohr verbunden ist. Die Lösung wird alsdann 2 Stunden unter fortwährendem Einleiten von Wasserstoff gekocht, hierauf schnell mit 25 *cm*³ $\frac{1}{10}$ n-KOH Schwefelsäure (mit Wasserstoff gesättigt) neutralisiert und mit 10 *cm*³ Wasser nachgespült. Nach dem Abkühlen der Lösung (Wasserstoff durchleiten) wird sie mit viel Äther 5—6mal extrahiert und je 50 *cm*³ nach dem Entgerben mit Kasein auf Zucker geprüft.[2])

Nach *Emil Fischer* und *K. Freudenberg*[3]) wird die Hydrolyse für die Zuckeruntersuchung folgendermaßen ausgeführt: Eine Tanninmenge, die 10 *g* Trockensubstanz entspricht, wird mit 100 *cm*³ 5%iger Schwefelsäure in einem Kolben aus Jenaer Resistenzglas mit langem Luftkühler in siedendem Wasser (5—87 Stunden) erhitzt. Nach einigen Stunden beginnt die von Anfang an hellbraune Flüssigkeit sich dunkler zu färben und ist zu Ende der Operation ganz undurchsichtig. Bleibt die abgekühlte Lösung 12 Stunden im Eisschrank, so scheidet sich der größte Teil der Gallussäure als tiefdunkle Krystallmasse ab. Aus dem wesentlich helleren Filtrat fällt man nun in der Hitze die Schwefelsäure genau durch eine heiße Lösung von Bariumhydroxyd, wobei jeder Überschuß der Base zu vermeiden ist. Das stark eingeengte Filtrat gibt eine zweite Krystallisation von Gallussäure. Die konzentrierte Mutterlauge wird mit je 30 *cm*³ Essigäther ausgeschüttelt. Der Zucker befindet sich in der mit Essigäther behandelten Mutterlauge. Die Flüssigkeit (10—15 *cm*³) ist braun gefärbt. Sie wird mit 1 *g* reinstem Bleikarbonat 15 Minuten aufgekocht, dann unter weiterem Kochen abwechselnd mit kleinen Mengen einer konzentrierten, wässerigen, heißen Lösung von einfach basischem Bleiazetat und mit wenig

[1]) *K. Feist* (Über Tannin. Ber. d. deutschen chem. Ges. **45**. 1404 [1912]), der nach dieser Methode in Tanninum levissimum pur. *Schering* keinen Zucker nachweisen konnte, ist der Meinung, daß der Zucker beim Kochen in alkalischer Lösung zerstört wird. Wir (*Nierenstein* und *A. Geake*, noch nicht veröffentlicht) haben daher eine 4·5%ige Zuckerlösung, die halb soviel Zucker enthielt, wie es *E. Fischer* und *Freudenberg* (Über das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe, Ber. d. deutschen chem. Ges. **45**. 915 [1912]) für das Tannin annehmen, mit Alkali unter Einleiten von Wasserstoff 2—3 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Wir fanden so bei verschiedenen Zuckerlösungen, daß zwar der Zucker teilweise zerstört wird, doch daß eine vollständige Zerstörung, wie sie *Feist* annimmt, ausgeschlossen ist.

[2]) *Nierenstein*, Über das Drehungsvermögen des Tannins. Chemiker-Zeitung. **31**. 72 (1907).

[3]) *Emil Fischer* und *K. Freudenberg*, Über das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe. Ber. d. deutschen chem. Ges. **45**. 915 (1912).

Bleikarbonat versetzt, bis die Flüssigkeit gegen Lackmus neutral reagiert. Man leitet nun bis zum Erkalten der Flüssigkeit Kohlensäure ein, saugt ab und wäscht mit warmem Wasser. Das klare, wenig gefärbte Filtrat ist frei von Gerbstoff, enthält aber eine kleine Menge Blei. Es wird unter Erwärmen mit Schwefelwasserstoff behandelt und das Filtrat durch Kochen vom Schwefelwasserstoff befreit. Diese Flüssigkeit wird direkt polarimetrisch und durch Titration mit *Fehling*scher Lösung auf Zucker untersucht.

B. Darstellung der Digallussäure aus Tannin.

Die Digallussäure wird durch Karboäthoxylierung des Tannins und darauf folgende Verseifung gewonnen. 50 *g* Tannin werden in 500—750 *cm*³ Wasser gelöst und unter Einleiten von Wasserstoff gekühlt. Ich habe mich hierfür des Apparates von *Emil Fischer* bedient.[1] Nachdem die Lösung mit Wasserstoff gesättigt ist (30—40 Minuten), werden unter fortwährendem Rühren 70 *cm*³ 2-n-Kalilauge und 55 *g* chlorameisensaures Äthyl in drei Portionen hinzugefügt, was $1^1/_2$ Stunden in Anspruch nimmt. Das beim Ansäuern sich ausscheidende Produkt löst man in Azeton, schüttelt mit Tierkohle und fällt mit Wasser. Man erhält so ein anfangs öliges, späterhin amorphes Produkt, das beim Lösen in Pyridin (für je 5 *g* Karboäthoxyderivat 20 *cm*³ Pyridin) unter Kohlensäureentwicklung eine klebrige, bald erstarrende Masse absetzt. Diese wird mit Ligroin heiß ausgezogen und wiederum in Wasser gelöst und wie oben mit chlorameisensaurem Äthyl und Alkali behandelt. Es empfiehlt sich, diesen Prozeß 3—4mal zu wiederholen.

Digallussäure, $(OH)_3\,C_6H_2\,.\,CO\,.\,O\,.\,C_6H_2(OH)_2(COOH)$.

Das aus Pyridin gewonnene Produkt krystallisiert in kleinen Nädelchen aus Alkohol und Wasser (1:3) und schmilzt unter Gasentwicklung bei 268—270°, wobei es schon bei 214° zu sintern beginnt. Bei 110° getrocknet, verliert die Säure 2 Mol. Kristallwasser. Sie gibt die für das Tannin charakteristische Gelatinefällung und wird von Hautpulver wie diese quantitativ gebunden. Mit Eisenchlorid liefert sie eine schwarzblaue Lösung, dagegen färbt sie sich erst nach einigem Stehen mit cyansaurem Kalium, was auf Hydrolyse in Gallussäure zurückzuführen ist.

C. Abbau- und Spaltungsprodukte der Digallussäure.

1. Hydrolyse mittelst Schwefelsäure. Bei der Hydrolyse entsteht glatt Gallussäure.

2. Oxydation mittelst Wasserstoffsuperoxyd. Bei der Oxydation bildet die Digallussäure Ellagsäure und Luteosäure.

---

[1] Vgl. dieses Handbuch. Bd. I. S. 35. Fig. 63.

-CO—O— OH
HO —O—CO— OH
OH
Ellagsäure.

—CO—O— OH
HO OH HOOC OH
OH
Luteosäure.

Die Säuren werden voneinander durch Lösen in Pyridin getrennt.

3. Oxydation mittelst Kaliumpersulfat in essigsaurer Lösung und Schwefelsäure.

Es entsteht hierbei Ellagsäure.

4. Aufspaltung mittelst Cyankalium und Benzoylchlorid.[1])

5 *g* Pentaazetyldigallussäure, durch Fällen mit Äther möglichst von Pentaazetyl-leukodigallussäure befreit [2]), werden mit 4 *g* Benzoylchlorid und 3·5 *g* Cyankali in 50 *cm*³ Wasser geschüttelt. Hierbei muß man jede Temperatursteigerung vermeiden und kühlen. Das Reaktionsgemisch, das bald erstarrt, wird mit eiskaltem 10%igen Natriumkarbonat behandelt. Hierbei löst sich die 5-Benzoyl-3.4-diacetylgallussäure

$$(C_6H_5.CO.O)(CH_3.CO.O)_2.C_6H_2.COOH.$$

Sie wird von der sie begleitenden Benzoesäure durch Extraktion mit Ligroin befreit und aus Methylalkohol umkristallisiert. Kleine, scharfe Nadeln, die bei 178—179° schmelzen. Der in Natriumkarbonat unlösliche Teil des Aufspaltungsproduktes wird mit Äther ausgezogen und nach dem Verdampfen des Äthers mit konzentrierter Salzsäure verseift. Man erhält so die Galloylameisensäure $(OH)_3C_6H_2.CO.COOH$, die aus verdünntem Alkohol (1 : 2) in schönen glänzenden Nadeln kristallisiert. Die Säure löst sich leicht in Alkohol, Methylalkohol, Benzol, Chloroform usw. Sie schmilzt bei 114—116°, ohne hierbei Kohlensäure abzuspalten. Mit Eisenchlorid gibt sie dieselbe Färbung wie die Gallussäure, mit Cyankali, zum Unterschied von der Gallussäure, die sich bekanntlich rot färbt, ein schönes Violett.

D. Reduktion der Digallussäure.

Für die Reduktion der Digallussäure habe ich Zinkstaub in wässeriger, essigsaurer und alkoholischer Lösung und Kalziumhydrür in feuchtem Äther und Alkohol verwandt. Es seien hier nur diejenigen Versuche beschrieben, die zu guten Resultaten geführt, doch sei erwähnt, daß alle diese Methoden Leukodigallussäure $(OH)_3C_6H_2.CH(OH)O.C_6H_2(OH)_2(COOH)$ gegeben haben.

1. Reduktion mittelst Zinkstaub in wässeriger Lösung. 1 *g* Digallussäure in 50 *cm*³ Wasser gelöst, wird am Rückflußkühler mit 10 *g*

[1]) *F. Francis* und *Nierenstein,* Über die Einwirkung von Benzoylchlorid und Cyankalium auf Benzoyloxybenzoesäuren und azylierte Oxybenzoyloxybenzoesäuren. Annalen der Chemie. **382**. 194 (1911).

[2]) *Nierenstein,* Zur Konstitutionsfrage des Tannins. Ber. d. deutschen chem. Ges. **40**. 917 (1907); **43**. 1688 (1910).

Zinkstaub 3—4 Stunden gekocht und heiß filtriert. Beim Abkühlen scheidet sich ein graubrauner Niederschlag aus, der nach dem Sammeln auf dem Filter gewaschen und sofort mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt wird. Die so erhaltene, fast farblose Flüssigkeit wird mit Natriumkarbonat vorsichtig neutralisiert und so die freie Schwefelsäure (man verwendet Tropäolin 00 als Indikator) entfernt. Auf $^1/_3$ des Volums eingeengt und sich selbst einige Zeit überlassen, kristallisiert der größte Teil der bei der Reaktion entstandenen Gallussäure aus. Hierauf wird abfiltriert und nochmals eingeengt, worauf sich eine weitere Menge Gallussäure ausscheidet. Das Filtrat wird mit Äther im größeren Überschuß ausgezogen und der Rückstand, nach dem Abdampfen des Äthers aus Alkohol und Chloroform (1:1), umkristallisiert. Es scheidet sich hierbei die razemische Leukodigallussäure in schönen Nadeln aus. Die Säure schmilzt bei 278—280°. Ein Mischschmelzpunkt der beiden Säuren gab 279—280°. Ausbeute 0·48 *g* gleich 48% der Theorie.

2. Reduktion mittelst Zinkstaub in alkoholischer Lösung. 1 *g* Digallussäure, in 50 *cm*³ Alkohol gelöst, wird mit 10 *g* Zinkstaub am Rückflußkühler gekocht und des weiteren wie bei der Reduktion in wässeriger Lösung verfahren. Nach der Neutralisation mit Schwefelsäure wird der Alkohol im Vakuum verdampft und der Rückstand in 50 *cm*³ Wasser gelöst. Hierauf wird durch Kristallisation von Gallussäure getrennt und wie oben beschrieben weiter bearbeitet. Die so erhaltene dl-Leukodigallussäure schmilzt bei 278—280°. Ausbeute 0·62 *g* entspricht 62% der Theorie.

3. Reduktion mittelst Kalziumhydrür in feuchter ätherischer Lösung. 1 *g* Digallussäure wird in 50 *cm*³ Äther gelöst und mit 5 *cm*³ Wasser versetzt. Hierauf fügt man in kleinen Portionen 10 *g* Kalziumhydrür *(Kahlbaum)* hinzu und läßt das Reaktionsgemisch 2—3 Tage in der Kälte stehen. Während der Zeit scheidet sich das Kalziumsalz der unveränderten Digallussäure und der Leukodigallussäure aus, so daß man für die Isolierung unter starker Eiskühlung mit verdünnter Schwefelsäure ansäuert, wobei die Leukodigallussäure und Spuren der Digallussäure in den Äther übergehen. Die Digallussäure ist nämlich schwerer in Äther löslich als die Leukodigallussäure. Nach dem Abdampfen des Äthers wird aus Chloroform und Alkohol umkristallisiert, wobei sich die ld-Leukodigallussäure in schönen Nadeln vom Schmelzpunkt 278—280° ausscheidet. Ausbeute 0·89 *g* entspricht 89% der Theorie.

Zum Unterschied von der Digallussäure, die ein ausgesprochener Gerbstoff ist, besitzt die Leukodigallussäure keine tannoiden Eigenschaften, d. h. sie wird von Gelatine nicht gefällt und nicht von Hautpulver und Kasein gebunden. Es beruht dieses wahrscheinlich auf den Übergang der tannophoren Gruppe —CO—O— in die tannoid-inaktiven Gruppe CH(OH)—O—.[1])

---

[1]) Ähnlich der Digallussäure gelingt auch die Reduktion der Ellagsäure (Formel I) zur Leuko-ellagsäure (Formel II), und zwar auf elektrolytischem Wege

E. Spaltung der razemischen Leukodigallussäure und ihrer Derivate.

Die Spaltung der Leukodigallussäure in ihre optisch-aktiven Komponenten ist mit großen Schwierigkeiten verbunden und ist fast eine Unmöglichkeit. Viel besser fällt sie dagegen bei der Hexakarboäthoxyleukodigallussäure aus, wo sich die beiden isomeren Salze durch Kristallisation trennen lassen. Die beiden aktiven Karboäthoxysäuren liefern bei der Hydrolyse mit verdünntem Pyridin die entsprechenden aktiven Leukodigallussäuren. Es beruht dieses Verfahren auf dem von *Emil Fischer* für die Spaltung von Aminosäuren ausgearbeiteten Prinzip, wo die Benzoylderivate zum gewünschten Ziele führen. Es scheint auch hier die Neutralisation der Hydroxyle, ähnlich derjenigen der Aminogruppen, die Bindung zwischen dem Karboxyl und der optisch-aktiven Base zu begünstigen.

5 *g* des Karboäthoxyproduktes, in 100 cm^3 Alkohol gelöst, werden mit 4 *g* Strychnin versetzt, auf dem Wasserbade erwärmt und filtriert. Nach ungefähr 8—10 Tagen beginnt die Ausscheidung des Strychninsalzes, die 3—4 Tage dauert, hierauf wird die Lösung abfiltriert, um $^1/_3$ im Vakuum eingeengt und sich selber 2—3 Tage überlassen. Man erhält so 2·95 *g* des Strychninsalzes. Das Salz wird in Alkohol gelöst, auf 0° abgekühlt und mit stark gekühlter $\frac{n}{10}$-Kalilaulauge zersetzt. Es entsteht so die

l-Hexakarboäthoxyleukodigallussäure.

Die freie Säure kristallisiert aus mit Alkohol verdünntem Chloroform (1:4) in kleinen Nadeln, die bei 127—128° unter Gasentwicklung schmelzen.

Trägt man die Säure in eine 1%ige Pyridinlösung ein, so tritt beim Erwärmen auf einem bei 45—50° gehaltenen Wasserbade starke Kohlensäureentwicklung auf. Dabei entsteht die

l-Leukodigallussäure.

---

in alkalischer Lösung (*Nierenstein* und *F. W. Rixon*, noch nicht veröffentlicht). Über negative Reduktionsversuche der Ellagsäure vgl. *Nierenstein*, Über Glauko-hydroellagsäure. Ber. d. deutschen chem. Ges. **41**. 1649 (1908). — Derselbe, Über Tetrahydro-ellagsäure. Ibid. **43**. 2016 (1910). — Derselbe, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. VIII. Mitt. Annalen der Chemie. **386**. 321 (1912).

I. (Strukturformel: HO, —CO—O—, OH, OH, —O—CO—, OH)

II. (Strukturformel: —CH(OH)—O—, OH, HO, —O—(OH)HC—, OH, OH)

Erwähnt sei, daß die Leuko-ellagsäure zum Unterschied von der gelbgefärbten Ellagsäure, die ein ausgesprochener Farbstoff ist, kein tinktorelles Vermögen besitzt und farblos ist. Es scheint, als ob das Tannophor —CO.O— und das abnormale Chromophor —CO.O— (vgl. *Nierenstein*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. III. Mitt. Ber. d. deutschen chem. Ges. **41**. 78 [1908]) in einem genetischen Zusammenhang stehen

Die Lösung wird unter stark vermindertem Drucke eingedampft und der Rückstand mit viel Äther ausgezogen. Beim Abdestillieren des Äthers erhält man einen kristallinischen Niederschlag, der sich aus Alkohol in kleinen Nadeln ausscheidet. Diese schmelzen unter Bräunung bei 276—277° und färben sich mit cyansaurem Kali schön rot. Mit Gelatine gibt die l-Leukodigallussäure keine Fällung, doch tritt nach einiger Zeit (3—4 Tagen) eine Trübung auf, die vielleicht auf einer langsamen Oxydation der l-Leukodigallussäure zur Digallussäure beruht. Das Drehungsvermögen der l-Leukodigallussäure nimmt mit der Zeit ab.

d-Hexakarboäthoxyleukodigallussäure.

Nach dem Abfiltrieren des l-Strychninsalzes wird das Filtrat im Vakuum eingeengt und die Kristallmasse scharf abgesogen. Das Produkt wird in Alkohol gelöst, mit Alkali in der Kälte versetzt, filtriert und nach dem Ansäuern unter stark vermindertem Drucke eingedampft. Hierauf wird mit Chloroform heiß 2—3mal ausgezogen und das Chloroform im Vakuum verdunstet. Die Säure läßt sich durch öfteres Lösen in Chloroform und Fällen mit Petroläther reinigen. Sie kristallisiert aus Chloroform in kleinen Schuppen, die unter Gasentwicklung bei 132—134° schmelzen und schon bei 127° zu sintern beginnen.

d-Leukodigallussäure.

Die Säure entsteht beim Erwärmen der d-Hexakarboäthoxyleukodigallussäure mit verdünntem Pyridin. Ihre Gewinnung und Reindarstellung ist dieselbe wie die der l-Leukodigallussäure. Die Säure kristallisiert aus Chloroform und Alkohol in kleinen, sternartig verwachsenen Nadeln, die bei 276—277° schmelzen und in jeder Hinsicht mit der bei der Reduktion des Tannins erhaltenen d-Leukodigallussäure identisch sind.

F. Abbau- und Umwandlungsprodukte der Leukodigallussäure.

1. Hydrolyse mittelst Schwefelsäure. Bei der Hydrolyse mittelst verdünnter Schwefelsäure zerfällt die Leukodigallussäure in Gallussäure und Gallusaldehyd.

2. Oxydation mittelst Wasserstoffsuperoxyd. 5 *g* Leukodigallussäure, in 150 cm^3 Wasser gelöst, werden mit 20 cm^3 Wasserstoffsuperoxyd am Steigerohr 4—6 Stunden gekocht, wobei die Lösung rot wird und ein rotes Pulver sich bildet. Dieses scheidet aus Pyridin die in kleinen Nadeln kristallisierende Ellagsäure

```
       ——CO—O
  /\———————/\OH
  |  |      |  |
HO\  /—O—CO—\  /OH
   \/
   OH
```

aus.

Die Mutterlauge setzt, zur Hälfte eingeengt, nach einigen Tagen Luteosäure (Pentaoxybiphenylmethylolidkarbonsäure)

CO—O
OH
HO OH HOOC OH
OH

ab. Diese kristallisiert aus Pyridin und Eisessig in kleinen, rosettenartig verwachsenen Nadeln, die unter Gasentwicklung bei 336—338° schmelzen.[1])

3. Oxydation mittelst Kaliumpersulfat in essigsaurer Lösung und Schwefelsäure. Oxydiert man Leukodigallussäure (15 *g*) mit Kaliumpersulfat (10 *g*) in 100 *cm*³ Essigsäure bei Anwesenheit von 2 *cm*³ Schwefelsäure, so entsteht das Purpurotannin[2])

COOH COOH
HO OH
OH O OH

4. Aufspaltungsversuch mittelst Cyankalium und Benzoylchlorid. Wie schon früher mitgeteilt, erhält man beim Einwirken von Benzoylchlorid und Cyankalium auf Pentaazetyldigallussäure: 5-Benzoyl-3·4-diazetylgallussäure und Galloylameisensäure bzw. das Cyanid der Triazetylgalloylameisensäure, es wurden daher auch Spaltungsversuche mit Penta- und Hexaazetylleukodigallussäure angestellt, ohne daß dabei die erwarteten Produkte, und zwar das 3, 4, 5-Triazetyloxymandelsäurenitril bzw. 3, 4, 5-Trioxymandelsäure und die 5-Benzoyl-3, 4-diazetylgallussäure auftraten. Die Bindung — CH(OH).O — verhält sich diesen Reagenzien gegenüber nicht wie die Bindung — CO.O —. Ähnlich negativ fiel auch ein Versuch aus, wo statt Benzoylchlorid chlorameisensaures Äthyl verwandt wurde.

5. Einwirkung von Formaldehyd und Salzsäure auf Digallussäure und Leukodigallussäure. Vor einigen Jahren haben *Nierenstein* und *Webster*[3]) gezeigt, daß Phenole mit Formaldehyd und Salzsäure 100%ige wasserunlösliche Diphenylmethanderivate bilden, während aromatische Säuren entweder zum Teil wasserunlösliche Diphenylmethane und wasserlösliche Oxyaurinkarbonsäuren wiederum zum Teil nur Oxyaurinkarbonsäuren oder gar keine Kondensationsprodukte formen. Umstehende Tabelle gibt unsere früheren Werte bei der Gallussäure und dem Tannin, außerdem meine Ergebnisse bei der Digallussäure und der Leukodigallussäure.

—

[1]) Bezüglich des Schmelzpunktes der Luteosäure vgl. Biochemisches Handlexikon. **7.** 11 (1910). Erwähnt sei, daß die so gewonnene Luteosäure beim Behandeln mit Diazomethan in Äther den Pentamethoxy-biphenyl-methylolid-carbonsäuremethylester (*Nierenstein* und *Jan Jedlička* noch nicht veröffentlicht) liefert.

[2]) Vgl. *Nierenstein*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. VIII. Mitt. Annalen der Chemie. **386.** 318 (1912).

[3]) *Nierenstein* und *T. A. Webster*, Über einen Fall der Fernwirkung der Karboxylgruppe. Ber. d. deutschen chem. Ges. **41.** 90 (1908).

	Gesamt-niederschlag g	In Wasser unlösliches Diphenylmethanderivat Prozent	In Wasser lösliche Oxyaurinkarbonsäure Prozent
Gallussäure	2·0706	78·84	21·16
"	1·2240	83·18	16·82
"	1·1405	59·94	41·06
Tannin	2·0599	0	fast 100
Digallussäure	2·1642	84·92	15·08
"	2·0436	79·77	20·23
"	2·1042	80·16	19·84
Leukodigallussäure	2·0436	4·10	95·84
"	2·0041	1·94	98·06
"	1·9846	4·02	95·98
"	1·8442	5·12	94·88

In ihrem Verhalten der Formaldehydkondensation gegenüber steht die Digallussäure der Gallussäure nahe, während die Leukodigallussäure sich wie das Tannin verhält und ist es daher leicht möglich, daß der Leukodigallussäureteil des Tanninmoleküls dem Tannin diese Eigenschaft verleiht.[1])

Methode. 2·5 *g* der betreffenden Säure, in 30 *cm*³ Wasser gelöst, werden kochend tropfweise mit 5 *cm*³ Formaldehyd (20%) und 2·5 *cm*³ Salzsäure versetzt, der Niederschlag nach 24 Stunden abfiltriert und bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es wird dann für längere Zeit mit viel Wasser heiß extrahiert und heiß filtriert, wobei noch mit heißem Wasser nachgewaschen wird (im ganzen 300 *cm*³ Wasser) und der Rückstand bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man arbeitet am besten im Goochtiegel.

G. Azetylierung des Tannins mittelst Essigsäureanhydrid und Versuche zur quantitativen Bestimmung der Pentaazetylleukodigallussäure im Azetylierungsgemisch.

Beim Azetylieren des Tannins mittelst Essigsäureanhydrid wird das Tanninmolekül in Pentaazetyldigallussäure und Pentaazetylleukodigallussäure gespalten. Die beiden Komponenten lassen sich teilweise durch Lösen in Alkohol und Fällen mit Äther trennen. Die so erhaltenen Niederschläge der Pentaazetylleukodigallussäure werden auf ein gewogenes Filter gebracht. Beim Einengen des Filtrats und weiteren Fällen mit Äther scheidet sich eine weitere Menge der Pentaazetylleukodigallussäure aus, die auf dasselbe Filter gebracht wird. Das Filtrat wird unter stark vermindertem Drucke (10—12 *mm*) eingedampft, ein gewogener Teil des trockenen Rück-

[1]) Bezüglich der Bedeutung der Formaldehyd-Kondensation der Gerbstoffe vergleiche *Nierenstein* und *E. Drabble*, On the role of phenols, tannic acids and oxybenzoic acids in cork formation. Bio-chemical journal. 2. 96 (1907) und *Nierenstein* und *T. A. Webster* l. c.

standes in 100 cm^3 Azeton gelöst und das optische Drehungsvermögen bestimmt. Der Pentaazetylleukodigallussäuregehalt läßt sich aus dem Drehungsvermögen der d-Pentaazetylleukodigallussäure $[\alpha]_D = + 76{\cdot}4^0$ berechnen.

H. Azetylierung des Tannins mittelst Azetylchlorid in Pyridin.

Je 10 *g* Tannin werden in 100 cm^3 Pyridin gelöst und unter Eiskühlung mit 20 *g* Azetylchlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird sich selber unter Kühlung (Eis und Salzsäure) 6—8 Stunden überlassen und das azetylierte Tannin mit Eiswasser gefällt. Man erhält so ein weißes, amorphes Pulver, das sich durch Lösen in Azeton und Fällen mit Wasser reinigen läßt. Das so erhaltene Produkt enthält etwas Triazetylgallussäure, von der es durch Kochen mit Toluol befreit wird. Alle Versuche, das Azetyltannin zu kristallisieren, sind fehlgeschlagen. Das so azetylierte Tannin schmilzt bei 218—224° unter Gasentwicklung und starker Zersetzung. Wiederholtes Lösen in Azeton und Fällen mit Wasser beeinflussen nicht den oben angeführten Schmelzpunkt. Das so azetylierte Tannin gibt in alkoholischer Lösung keine Färbung mit Eisenchlorid. Beim Behandeln mit Natriumkarbonat in der Kälte entsteht ein Natriumsalz. Allem Anschein nach entsteht beim Azetylieren des Tannins (Polydigalloylleukodigallussäureanhydrid) in Pyridin, wobei das Anhydrid in die Säure übergeht, die Polyazetyl-polydigalloylleukodigallussäure,

$$(AcO)_3\,C_6H_2\,.\,CO\,.\,[O\,(OAc)_2\,.\,C_6H_2\,.\,CO]_x\,.$$
$$.\,O\,(OAc)_2\,.\,C_6H_2\,.\,CH\,(OAc)\,.\,O\,(OAc)_2\,.\,\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{C_6H_2}}$$

I. Aufspaltung der Polyazetyl-polydigalloylleukodigallussäure mittelst chlorameisensaurem Äthyl und Cyankali.

Für die Aufspaltung habe ich statt des Benzoylchlorids chlorameisensaures Äthyl verwendet, da das neu eingetretene Karboäthoxylradikal sich leicht durch Behandeln mit Pyridin eliminieren läßt und so die weitere Bearbeitung des Spaltungsproduktes ermöglicht.

Die Aufspaltung verläuft im folgenden Sinn:

$$(AcO)_3\,C_6H_2\,.\,CO \;\updownarrow\; [O\,(OAc)_2\,.\,C_6H_2\,.\,CO)]_x \;\updownarrow\; O\,(OAc)_2\,C_6H_2\,.$$
$$CH\,(OAc)\,O\,(Ac)_2\,\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{C_6H_2}}$$

5 *g* des Azetylproduktes werden mit 12 *g* chlorameisensaurem Äthyl und 12 *g* Cyankali in 75 cm^3 Wasser geschüttelt. Hierbei muß man jede Temperatursteigerung vermeiden und stark mit einem Eis- und Salzsäuregemisch kühlen. Das Reaktionsgemisch, das bald zu einem Brei erstarrt, wird mit eiskaltem Natriumkarbonat behandelt. Dabei löst sich die d-Monokarboäthoxypentaazetylleukodigallussäure. Die Säure kristallisiert

aus Methylalkohol in kleinen, scharfen Nadeln, die bei 154—159° unter starker Zersetzung schmelzen.

Erwärmt man die Säure mit verdünntem Pyridin, so findet unter Gasentwicklung Abspaltung des Karboäthoxylrestes statt; dabei entsteht allem Anscheine nach die korrespondierende d-Pentaazetylleukodigallussäure,

$$(OH)(CH_3.CO.O)_2.C_6H_2.CN(O.CO.CH_3).O.(CH_3.CO.O)_2C_6H_2.COOH.$$

Die Kristallisation dieser Säure ist mir nicht gelungen. Mit Eisenchlorid gibt sie eine gelbbraune Färbung. Beim Azetylieren mit Essigsäureanhydrid entsteht die d-Hexaazetylleukodigallussäure,

$$(CH_3CO.O)_3.C_6H_2.CH(O.CO.CH_3).O.(O.CO.CH_3)_2.C_6H_2.COOH.$$

Kleine Schuppen aus Alkohol, die bei 153—154° schmelzen.

K. Azetylierung des Tannins mit Keten.[1])

Die Azetylierung wird in trockenem Azeton ausgeführt und der ketenhaltige Azetondampf in die stark gekühlte Azetonlösung eingeleitet. Die Methode ist sehr umständlich, je 0·1 *g* Tannin bedarf 150—170 cm^3 Azeton in Form von Dampf. Die Azetylierung von 1 *g* Tannin dauert 4—5 Tage. Nachdem eine mit Wasser gefällte Probe beim Auflösen in Alkohol keine Färbung mit Eisenchlorid gibt, unterbricht man die Azetylierung und dampft im Vakuum (10—12 *mm*) bei 30—40° ein. Hierauf wird mit Wasser aufgeschwemmt und der weiße Niederschlag durch Lösen in Azeton und Fällen mit Wasser gereinigt. Das so gebildete Polyazetylpolydigalloylleukodigallussäureanhydrid,

$$(OAc)_3.C_6H_2.CO[O(OAc)_2.C_6H_2.CO]_x.$$

$$O(OAc)C_6H_2.CO(OAc)_2C_6H_2.CH(OAc)O.(OAc)_2C_6H_2$$

(mit Ringschluss: O am ersten C_6H_2 —— CO am letzten C_6H_2)

enthält Spuren der Polyazetyldigalloylleukodigallussäure, von der es sich durch Schütteln einer 1%igen Lösung von Dimethylanilin in absolutem Alkohol trennen läßt. Es enthält auch manchmal Triacetylgallussäure, von der es sich durch Extraktion mittelst Toluol befreien läßt.[2]) Das Anhydrid wird dann nochmals durch Lösen in Azeton und Fällen mit Wasser gereinigt und stellt dann ein weißes, amorphes Pulver dar, das bei 287—299° unter starker Zersetzung schmilzt. Zum Unterschied von der azetylierten Polydigalloylleukodigallussäure ist das Anhydrid in Natronlauge in der Kälte unlöslich.

Erwärmt man das azetylierte Polydigalloylleukodigallussäureanhydrid mit verdünntem Pyridin, so findet allem Anschein nach Öffnung des An-

[1]) Bezüglich der Ketengewinnung aus Azeton vgl. besonders *H. Staudinger,* Die Ketene. S. 136. F. Enke, Stuttgart (1912).

[2]) *Nierenstein,* Zur Konstitutionsfrage des Tannins. IX. Mitt. Annalen der Chemie. 388. 252 (1912).

hydrids statt, wobei die Monooxypolyazetylpolydigalloylleukodigallussäure,

$$(OAc)_3 . C_6H_2 . CO [O(OAc)_2 . C_6H_2 . CO]_x . O(OAc) . \underset{\displaystyle OH}{C_6H_2} . CO . O(OAc)_2 . C_6H_2 . CH(OAc) . O . (OAc)_2 \underset{\displaystyle COOH}{C_6H_2}$$

entsteht, die sich in alkalischer Lösung zu der Monokarboäthoxypolyazetyl-polydigalloylleukodigallussäure,

$$(OAc)_3 . C_6H_2 . CO . [O(OAc)_2 . C_6H_2 . CO]_x . O . (OAc) \underset{\displaystyle O . COOC_2H_5}{C_6H_2} . CO . O . (OAc)_2 . C_6H_2 . CH(CAc) . O . (OAc)_2 \underset{\displaystyle COOH}{C_6H_2}$$

karbäthoxylieren läßt. Zur Darstellung derselben verfährt man wie folgt: 0·5 *g* mit Keten azetyliertes Tannin werden auf dem Wasserbade mit 30 cm^3 einer 5%igen Pyridinlösung erwärmt, filtriert und sorgfältig mit viel Wasser gewaschen. Der Niederschlag wird mit 50 cm^3 $\frac{n}{10}$-KOH und 4 *g* chlorameisensaurem Äthyl auf der Maschine geschüttelt und das Reaktionsgemisch nach einer Stunde mit einer weiteren Menge 50 cm^3 $\frac{n}{10}$-KOH behandelt, filtriert und das stark abgekühlte Filtrat mit eiskalter Schwefelsäure angesäuert. Man erhält so die Monokarbäthoxypolyazetyl-polydigalloylleukodigallussäure als weißes, amorphes Pulver, das sich durch Lösen in Azeton und Fällen mit Wasser reinigen läßt. Der Schmelzpunkt ist schwankend und liegt zwischen 236—240° und 236—244°. Erwärmt man die Säure mit verdünntem Pyridin, so findet unter starker Kohlensäureentwicklung Abspaltung des Karbäthoxylrestes statt.

L. Aufspaltung des Polyazetylpolydigalloylleukodigallussäureanhydrids mittelst chlorameisensaurem Äthyl und Cyankali.

Läßt man obige Reagenzien auf das mit Keten azetylierte Tanninmolekül einwirken, so verläuft die Aufspaltung im folgenden Sinn:

$$(OAc)_3 . C_6H_2 . CO \,\updownarrow\, [O(OAc)_2 . C_6H_2 . CO]_x \,\updownarrow\, O(OAc) . \underset{\displaystyle O}{C_6H_2} . CO . O(OAc)_2 . C_6H_2 . CH(OAc)\,O(OAc)_2 . \underset{\displaystyle CO}{C_6H_2}$$

(O———↕———CO: Ringschluß zwischen dem ersten und letzten C_6H_2, in der Mitte gespalten)

Es entstehen:

1. Triazetylgalloylcyanid, $(CH_3 . CO . O)_3 C_6H_2 . CO . CN$.
2. Monokarbäthoxydiazetylgalloylcyanid,

$$(C_2H_5OOCO)(CH_3 . CO . O)_2 . C_6H_2 . CO . CN$$

(die beiden Nitrile wurden auch in diesem Falle als Galloylameisensäure, $(OH)_3 . C_6H_2 . CO . COOH$, identifiziert) und

3. Dikarbäthoxyhexaazetylgalloylleukodigallussäure,

$$(C_2H_5OOCO)_2 . (CH_3 . CO . O) . C_6H_2 . CO . O . (CH_3 . CO . O)_2 . C_6H_2 . CH(O . CO . CH_3) . O . (CH_3 . CO . O)_2 . C_6H_2 . COOH.$$

5 *g* azetyliertes Tannin werden zuerst mit 2 *g* chlorameisensaurem Äthyl und 2 *g* Cyankali in 75 cm^3 Wasser geschüttelt. Das Reaktionsgemisch wird sich selber 15—20 Minuten überlassen, stark abgekühlt (man verwendet Eis und Salzsäure als Kühlungsgemisch) und mit weiteren 7 *g* chlorameisensaurem Äthyl und 9 *g* Cyankali geschüttelt. Das Reaktionsgemisch wird mit eiskaltem 10%igen Natriumkarbonat behandelt, wobei die Dikarbäthoxyhexaazetylgalloylleukodigallussäure in Lösung geht. Die Kristallisation derselben ist mir nach einer Reihe von vergeblichen Versuchen nicht gelungen. Der Schmelzpunkt des amorphen Produktes liegt zwischen 216—221° unter starker Zersetzung und Gasentwicklung. Erwärmt man die Dikarbäthoxysäure mit verdünntem Pyridin, so entsteht die Dioxyhexaazetylgalloylleukodigallussäure,

$$(OH)_2 . (CH_3 . CO . O) . C_6H_2 . CO . O(O . CO . CH_3)_2 . C_6H_2 . CH(O . CO . CH_3) . O . (CH_3 . CO . O)_2 . C_6H_2 . COOH.$$

Die Säure kristallisiert aus verdünntem Alkohol in kleinen, mikroskopischen Nadeln, die bei 257—259° unter starker Zersetzung schmelzen.

M. Mutarotationserscheinungen beim Tannin.

Das Rotationsvermögen des Tannins nimmt beim Stehen einer mit Wasserstoff gesättigten wässerigen Lösung langsam ab.[1]) Rotationsabnahmen finden auch beim Kochen einer mit Wasserstoff gesättigten Tanninlösung[2]) und beim Durchleiten von elektrischem Wechselstrom statt.[3]) So fällt auch die Rotation bei Zusatz von Pyridin, Chinolin und Anilin zu einer alkoholischen Lösung.[4])

Für die Rotationsbestimmungen in wässeriger Lösung werden die Tanninlösungen in einer Silberflasche mit Rückflußkühler aus Glas unter Einleiten von Wasserstoff gekocht und Gerbstoff- wie auch Rotationsbestimmungen ausgeführt. Die Gerbstoffbestimmung geschieht nach der Kaseinmethode von *Körner* und *Nierenstein*.[5]) Sie ermöglicht unter Abzug der „Nichtgerbstoffe" die Berechnung des spezifischen Drehungsvermögens des Tanninmoleküls. Außerdem werden auch die „Nichtgerbstoffe", d. h. derjenige Teil, der nicht von Kasein absorbiert wurde, auf Gallussäure durch Titrieren mit Kaliumpermanganat nach der *Löwenthal*schen[6]) Methode quantitativ untersucht. Eine Reihe von Versuchen hatte nämlich ergeben, daß

[1]) *Nierenstein* und *O. J. Williams*, noch nicht veröffentlicht.

[2]) *Nierenstein* und *R. J. Manning*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. X. Mitt. Ber. d. deutschen chem. Ges. **45**. 1548 (1912).

[3]) *Nierenstein* und *O. J. Williams*, noch nicht veröffentlicht.

[4]) *Nierenstein* und *R. J. Manning* l. c.

[5]) Dieses Handbuch **6**. S. 176.

[6]) Dieses Handbuch **6**. S. 177.

10 cm^3 einer 0·1 $^0/_0$igen Lösung der unten angeführten Säuren folgende Mengen einer 0·05 $^0/_0$igen Kaliumpermanganatlösung unter Abzug des für den Indigo verbrauchten Permanganats verlangten: Gallussäure = 21·60 cm^3. Digallussäure = 26·70 cm^3 und Leukodigallussäure = 28·10 cm^3. Hierdurch ist die Möglichkeit gegeben, die „Nichtgerbstoffe" quantitativ zu identifizieren.

Für unsere Versuche verwandten wir seinerzeit eine 5 $^0/_0$ige Tanninlösung: 10 cm^3 der Lösung gaben beim Eindampfen und Trocknen bis zur Gewichtskonstanz einen Trockenrückstand = 0·4518 g (Durchschnitt aus 2 Bestimmungen). Für die „Nichtgerbstoff"-Bestimmung werden 20 cm^3 der Lösung auf 100 cm^3 verdünnt und 30 Minuten mit 6 g Kasein und weitere 15 Minuten mit 3 g Kasein auf der Maschine geschüttelt. Die Lösung wird 2—3mal durch ein Bariumsulfatfilter filtriert und 50 cm^3 der Lösung eingedampft und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Das Rotationsvermögen wurde seinerzeit im 2-dm-Rohr bei 18° im Natriumlicht bestimmt. Nachstehende Tabelle gibt die seinerzeit erhaltenen Werte.

h	Nichtgerbstoffe, Gallussäure			Gerbstoffe Tannin g	Drehungsvermögen	
	g	$KMnO_4$ in cm^3			abgelesen	spez. Drehung
		gef.	ber.			
0	0·0244	53·40	52·70	0·4274	+5·83°	+68·22°
1	0·0267	56·20	57·70	0·4251	+5·65°	+66·45°
2	0·0305	63·20	65·80	0·4213	+5·50°	+65·28°
3	0·0316	68·10	68·35	0·4202	+5·35°	+63·68°
4	0·0349	74·70	75·40	0·4169	+5·30°	+63·57°
5	0·0387	84·70	83·60	0·4134	+5·25°	+63·54°
6	0·0425	90·60	91·80	0·4093	+5·20°	+63·53°
7	0·0408	88·10	88·20	0·4110	+5·00°	+61·00°
8	0·0407	79·70	88·00	0·4111	+4·95°	+60·22°
9	0·0489	102·00	107·10	0·4088	+4·91°	+60·04°
10	0·0414	84·20	89·50	0·4104	+4·92°	+60·00°
11	0·0500	102·40	108·10	0·4018	+4·81°	+59·85°
12	0·0532	112·60	115·10	0·3986	+4·77°	+59·84°

III. Nachweis.

Für den Nachweis von Gerbstoffen sind eine Reihe von Reagenzien in Vorschlag gebracht. Ich führe hier zwei Tabellen an, die einige der für die Untersuchung der Gerbstoffe angewandten Reaktionen angeben.[1]

Von besonderer Bedeutung für den Nachweis von Gerbstoffen ist die Gelatinefällung. Für diesen Zweck verwendet man am besten eine 0·5 $^0/_0$ige Lösung, die durch Erwärmen auf dem Wasserbade bei 60 bis 70° dargestellt wird. Direktes Erhitzen auf offener Flamme scheint, wie ich öfters gefunden habe, die Gelatinelösung zu beeinflussen. Man erhält so zwar Fällungen, doch sind dieselben nicht beständig und flockig.

---

[1]) Vgl. auch *M. Nierenstein*, Chemie der Gerbstoffe. F. Enke. Stuttgart (1910).

Tabelle I. [1])

Reagens	Leim und Eiweiß	Eisenchlorid	Bleiazetat	Kalilauge	Ammoniak	Baryt-wasser	Kalkwasser	Kupfer-sulfat, sauer	Fehlingsche Lösung	Silbernitrat-ammonium	Bromwasser	Uranyl-azetat	Rauch. Sal-petersäure	Ammonium-molybdänat	Ferri-cyankali
Gallussäure	keine Fällung	blau	Fällung	—	—	gelbe Fällung	—	—	—	—	—	—	—	—	—
a-Digallus-säure . .	Fällung	blau	Fällung	—	—	hell-blaue Fällung	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tannin . .	Fällung	blau-grün	Fällung	—	—	dunkel-grüne Fällung	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sumach . .	Fällung	blau-grün	Fällung	—	—	hell-grüne Fällung	hell-grüne Fällung	—	—	—	—	—	—	—	—
Quebracho .	Fällung	grün	Fällung	rot	rot	violette Fällung	violette Fällung	grün	schwache Reduktion	Reduktion	gelbe Fällung	rote Fällung	gelbrote Fällung	gelb bis rot	Wärme rotbraun, dann dunkel-grün
Maletto . .	Fällung	grün	Fällung	rot	rot	violette Fällung	violette Fällung	grün	schwache Reduktion	Reduktion	gelbe Fällung	rote Fällung	gelbrote Fällung	röt-lich	braun, dann grün
Tee . . .	Fällung	blau-grün	Fällung	rot	rot	braune Fällung	braune Fällung	—	—		—	—	—	—	Hitze grün
Maté . . .	Fällung	grün	Fällung	rot-gelb, dann grün	gelb, dann grün	gelbe Fällung	gelbe Fällung	gelb-grüner Nieder-schlag	—	erst gelb-weiß, dann Reduktion	rote Fällung	braune Fällung	blutrot	blut-rot	Hitze grün
Kaffee . .	Fällung	grün	Fällung	gelb, dann grün	gelb, dann grün	gelbe Fällung	gelbe Fällung	gelb-grüner Nieder-schlag	schwache Reduktion	erst gelb-weiß, dann Reduktion	rote Fällung	braune Fällung	blutrot	blut-rot	In der Hitze grün, dann blaugrün

[1]) *Geschwender*, Beiträge zur Gerbstofffrage. Diss. Erlangen (1906).

Tabelle

Reagens	Fichtenrinde	Eichenrinde	Weidenrinde
Wasser	orangefarbige Trübung	weißgelber Niederschl., teilweise löslich	grünlichweiße Trübung
Wasserstoffsuperoxyd . .	desgleichen	desgleichen	apfelgrüner Niederschlag
Salzsäure . . .	braunrote Lösung	braungelb. Niederschl., braune Lösung	weißgelber Niederschl., rosenrote Zone
Schwefelsäure .	Niederschlag und Lösung rostbraun	weißgelber Niederschl., braune Lösung	lichtbraungelber Nied., oben kirschrote Zone
Salpetersäure .	braungelb. Niederschl., dunkelbraune Lösung	desgleichen	Niederschlag und Lösung gelb
Essigsäure . . .	weißgelber Niederschl.	—	—
Ammoniak . .	brauner Niederschl., im Überschuß teilw. lösl.	dunkelgelb. Niederschl. im Überschuß löslich	Trübung
Chloroform . . .	rotgelb. flock. Niederschlag, Lösung braun	weißgelber Niederschl., gelbliche Lösung	weißliche Trübung
Schwefeläther .	lichtbrauner Niederschlag	lichtgelber Niederschlag	—
Essigäther . . .	Trübung	—	—
Benzol	rotbrauner Bodensatz	brauner flockiger Niederschlag	—
Petroläther . .	Äther ungefärbt	Äther schwachgelb	—
Schwefelkohlenstoff	CS_2 gelb gefärbt	CS_2 gelb gefärbt	CS_2 grün gefärbt
Naphtol	brauner Niederschlag und Lösung	brauner Niederschlag und Lösung	gelbbraun. Niederschl., dunkelbraunrote Lös.
Glyzerin . . .	gelber flockiger Niederschlag	—	weißgrüner flockiger Niederschlag
Weinsäure . .	weißgelbe Trübung	geringer weißgelb. Nied.	grüngelbe Flocken
Zitronensäure .	desgleichen	desgleichen	desgleichen
Oxalsäure . . .	desgleichen	desgleichen	desgleichen
Trinitrophenol .	gelbl. Nied. u. Lösung	gelbl. Nied., braune Lös.	—
Salizylsäure . .	lichtbr. Niederschlag	weißgelber flock. Nied.	grünlich gelber Nied.
Brechweinstein .	falbfarb. Niederschlag	graugelber Niederschl.	weißgrauer Nied., oben tiefgraue Schichte
Blutlaugensalz, gelbes . . .	weißgelber Niederschlag	weißgelber Niederschlag	weißgrüner Niederschlag
Rhodankalium .	braungelblich. flockig. Nied., in d. Wärme lösl.	braungelber flockiger Niederschlag	blattgrüner Niederschlag
Cyankalium . .	lichtbraune Trübung	lichtbraune Trübung	blattgrüner Niederschlag, gelbl. Lösung
Kalk	braungelb. Nied., an der Oberfläche glänzend	braungelber, ob. chokoladfarb. Nied., gelbe Lös.	schmutzigschwefelgelber Niederschlag
Baryt	schmutziggelber Nied., weißgelbe Lösung	desgleichen	desgleichen
Strontian . . .	desgleichen	desgleichen	desgleichen
Magnesia . . .	lichtbr. Niederschlag	schmutzigweißer Niederschlag	violettroter Niederschl., Lösung grün
Kaliumchromat	erdbrauner Niederschl.	gelbbrauner Niederschlag	chromgelber Niederschlag
Quecksilberchlorid	lichtrotbrauner Niederschlag	weißgelbe Trübung	weißer Niederschlag
Quecksilberoxydul, salpeters.	schmutziggraubrauner Niederschlag	rötlichgelb, dann graubrauner Niederschlag	nach längerem Stehen schmutziggelber Nied.

[1]) Vgl. *Procter-Paessler*, Leitfaden der gerbereichemischen Untersuchungen. Julius

II. [1])

Mimosarinde	Hemlockrinde	Eichenholz	Quebrachoholz
weißgelber Niederschlag, braune Lös.	dunkelbraunroter Niederschlag	lichtgelbe Trübung	Trübung
desgleichen	lichtbrauner Niederschlag und Lösung	weißgelber flockiger Niederschlag	braungelber flockiger Niederschlag
desgleichen	dunkelbrauner Niederschlag und Lösung	lichtrotgelber flock. Niederschlag	desgleichen
geringer rostbr. Nied., Lösung dunkel	dunkelrostbraune Lösung	brauner Niederschlag und Lösung	dunkelbraune Lösung
desgleichen	rotbrauner Niederschlag und Lösung	gelber flockiger Niederschlag	geringer Niederschlag, rotbraune Lösung
—	—	—	—
violettrot, im Überschuß lösl. Nied.	dunkelbraun, im Übersch. unlösl. Nied.	Niederschlag im Überschuß rot gelöst	dunkelbrauner Niederschlag
—	—	dunkelbrauner Aussch.	Lösung schwachgelb, oben rotbraun
grauvioletter Niederschlag	brauner Niederschlag	geringer weißgelber Niederschlag	—
—	—	—	—
schwarzrote Schichte am Boden	braune Schichte am Boden	geringer rotbrauner Niederschlag	—
—	Äther schwachrot gef.	—	
CS, schwach gelb	—	—	—
brauner Niederschl. und Lösung	—	gelbbrauner Niederschlag, dunkle Lös.	gelbbrauner Niederschl., dunkelbraune Lösung
—	roter flockiger Niederschlag	schwache Trübung	—
braungelber Nied.	rotbr. Niederschl.	weißgelb. flock. Nied.	brlglb., flock. N., dklr. L.
desgleichen	desgleichen	desgleichen	desgleichen
desgleichen	volumin. rotbr. Nied.	desgleichen	desgleichen
—	gelbbr. Niederschl.	—	—
geringer braun. Nied.	starker rotbr. Nied.	weißgelb. Niederschl.	brlglb. Nd., dklrotbr. Lös.
violettroter Niederschlag	schmutzigbrauner Niederschlag	desgleichen geringer	falbfarbener Niederschlag
fleischroter Niederschlag	rotbrauner Niederschlag	weißer Niederschlag	lichtrotbrauner Niederschlag
schokoladebrauner Niederschlag	rotbr., in der Wärme löslicher Niederschl.	weißgelb. Niederschl., lichtgelbe Lösung	—
—	desgleichen	Niederschlag unten braun, oben weißgelb	geringer Niederschlag, amarantrote Lösung
blauvioletter, oben brauner Niederschl.	violettbr. Nied., oben glänzend, erdbraun	Niederschl. unt. weiß, oben blau, dann braun	Niederschl. violettbraun, oben dunkelbraun
blaugrün, oben brauner Niederschl.	desgleichen	bläul., spät. br. Nied., oben glänzend rotbr.	Niederschl. weißgrau, oben schokoladbr. glänz.
schmutzigblauer Niederschlag	desgleichen	Nied. unt. weiß, oben blau, dann lichtbraun	desgleichen
grauer Niederschlag	roter Niederschlag	weißgelber Niederschlag	Niederschl. violettrot. Lösung dunkel
brauner Niederschlag	brauner Niederschlag	braungrüner, später brauner Niederschlag	dunkelbrauner Niederschlag
lichtblauer Niederschlag	blutroter Niederschlag	weißgelber flockiger Niederschlag	dunkle Trübung
schmutzigbrauner Niederschlag	braunrot, dann erdfarbener Niederschl.	anf. ziegelrot, dann braunr. bis graug. Nd.	nach längerem Stehen schokoladebraunerNied.

Springer. Berlin (1901). S. 91.

Reagens	Valonea	Myrobalanen	Dividivi
Wasser	schmutziggelbe Trübung, ob. dunkle Zone	schmutziggelbe Trübung	starke gelbbraune Trübung
Wasserstoffsuperoxyd . .	desgleichen	gelblicherNiederschlag	gelblicherNiederschlag
Salzsäure . . .	lichtbraune Trübung	lichtbraune Trübung	weißgelber Niederschl., rotbraune Lösung
Schwefelsäure .	geringer gelbl. Niederschlag, lichte Lösung	geringe gelbbraune Trübung	schmutzigroter Niederschlag
Salpetersäure .	gering. lichtbr. Niederschlag, dunkle Lösung	schmutzigrote Färbung	schmutzigbraune Trübung
Essigsäure . . .	gelbliche Trübung	dunkelgelbe Trübung	lichtbraune Trübung
Ammoniak . .	gelbl. weißer Nd., teilw. lösl., b. Stehen kirschr., dann brauner Schauer	gelblichweißer, später brauner Niederschlag, im Überschuß löslich	gelblichweißer Nied., im Übersch. teilw. lösl., beim Stehen braun
Chloroform . .	gelbgraue Flocken	gelbgraue Flocken	gelblichbrauneFlocken
Schwefeläther .	—	—	—
Essigäther . . .	—	—	—
Benzol	schmutziggelbweiß, dann schwarzbr. Nied.	lichtgelbe Flocken	rostbrauner Niederschlag
Petroläther . .	—	—	—
Schwefelkohlenstoff	an d. Grenzzone dichte gelbe Flocken	CS, fast ungef., an der Grenzzone gelbe Flock.	CS, fast ungef., an der Grenzzone gelbe Flock.
Naphtol	geringer gelbbrauner Niederschlag	geringer gelbbrauner Niederschlag	geringer gelbbrauner Niederschlag
Glyzerin . . .	nach längerem Stehen gelblicher Niederschl.	nach längerem Stehen gelbe Flocken	nach langem Stehen sehr geringe Trübung
Weinsäure . . .	gelbgrauer Niederschl.	gelblicher Niederschl.	gelblicherNiederschlag
Zitronensäure .	desgleichen	desgleichen	desgleichen
Oxalsäure . . .	schwefelgelber Nied.	desgleichen	gelbbr.Nd.,lichtbr.Lös.
Trinitrophenol .	schmutziggelbbr., spät. zitronengelber Nied.	lichtgelber, später gelber Niederschlag	rostbraun,spät. orangegelbe Trübung
Salizylsäure . .	gelbgrauer Niederschlag	gelblicher Niederschlag	gelblichbrauner Niederschlag
Brechweinstein .	lichtgelber gräulicher Niederschlag	lichtcrêmefarbener Niederschlag	ockergelber käsiger Niederschlag
Blutlaugensalz, gelbes . .	lichtgelbweißer Niederschlag	crêmegelber Niederschlag	orangefarbenerNiederschlag
Rhodankalium .	gelbgrauer Niederschlag	gelber Niederschlag	dunkelgelber Niederschlag
Cyankalium . .	desgleichen	desgleichen	desgleichen
Kalk	lichtschokoladebraun. Niederschlag	eigelber Niederschlag, farblose Lösung	isabellfarbener nachdunkelnder Niederschl.
Baryt	desgleichen	desgleichen	desgleichen
Strontian . . .	schokoladebrauner Nied., später schwarz	schmutz., auch grüner, dann brauner Nied.	schwachrötl. Nied., oben schmutziggrau
Magnesia . . .	gelblicherNiederschlag	gelblicherNiederschlag	graubrauner Niederschlag
Kaliumchromat	gelbbrauner Niederschlag	schmutzigbrauner Niederschlag	dunkelbrauner Niederschlag
Quecksilberchlorid	schmutziggelber Niederschlag, teilweise löslich	gelbbrauner Niederschlag, im Überschuß löslich	brauner Niederschlag, größtenteils löslich im Überschuß
Quecksilberoxydul, salpeters.	orangegelber Nied., später schmutziggrau	orangegelber, dann graugelber Niederschl.	orangegelber, später schmutziger Nied.

Sumach	Knoppern	Birkenrinde
schmutziggrüner Niederschlag	weißgelber Niederschlag	braungelbe Trübung
grüner Niederschlag	desgleichen	rotbrauner Niederschlag
dunkelgrüner Niederschlag	desgleichen	gelbbrauner Niederschlag
lichtgrüner Satz, grüne Lösung	graugelber Niederschlag	starker rotbrauner Niederschlag, dunkle Lösung
schwarzgrüner Niederschlag	dunkelgelber Niederschlag	rostbrauner Niederschlag und Lösung
dunkelschmutziggrüner Nd.	gelbbrauner Niederschlag	—
ursprünglich heller, dann schmutziggrüner Niederschlag	dicker grauweißer Niederschlag, rot nachdunkelnd	dunkelfleischroter im Überschuß löslicher Niederschlag
geringe grüne Ausscheidung	starker weißgelber Niederschlag	geringer brauner Niederschlag
—	graubrauner Niederschlag	Spur innen fleischroter Niederschlag
—	—	—
nach längerem Stehen geringer gelblicher Niederschl.	rötlich gelbe Flocken	—
—	Äther gelbgrün gefärbt	—
CS, grün gefärbt	CS, gelbgrün gefärbt	—
grünbrauner Niederschlag	nach längerem Stehen geringer grauer Niederschl.	gelbbrauner Niederschlag, dunkelrote Lösung
nach langem Stehen schwarzgrüner Niederschlag	schwache Trübung	Trübung
grüner Niederschlag	grünlich gelber Niederschl.	lichtrostbrauner Niederschl.
desgleichen	desgleichen	desgleichen
desgleichen	desgleichen	desgleichen
apfelgrüner Niederschlag	—	—
grüner Niederschlag	graugelber Niederschlag	desgleichen
grünlichgelber käsiger Niederschlag	schmutzigweißer käsiger Niederschlag	starker rostbrauner Niederschlag
lichtgrüner Niederschlag	grünlichgelber Niederschlag	starker lichtrostbrauner Niederschlag
grüner Niederschlag	orangegelber Niederschlag	Trübung
desgleichen	käsiger rötlichweißer nachdunkelnder Niederschlag	weißgelber Niederschl., oben erdbraun und glänzend
erst grüner, dann gelber Niederschlag	grünbrauner Niederschlag	fleischroter, oben zinnoberroter Niederschlag
erst grüner, dann schwefelgelber Niederschlag	grüner Niederschlag, über Nacht graubraun	weißgrauer, oben brauner Niederschlag
desgleichen	desgleichen	weißgrauer, oben zinnoberroter Niederschlag
schmutziggrüne Masse	gelblichweißer Niederschlag	lichtfleischroter Niederschlag
schmutzigbrauner Niederschlag	dunkelrotvioletter, dann schokoladefarb. Niederschl.	kastanienbrauner Niederschlag
schmutziggrauerNiederschl., im Übersch. teilw. löslich u. beim Stehen gelb ausfallend	gelbgrüner Niederschlag	rotgelber Niederschlag
laubgrüner Niederschlag	orangefarb. grauwerdender Niederschlag	grauer Niederschlag

Die Bedeutung der Gelatinefällung für die Chemie der Gerbstoffe ist von mir[1]) öfters betont worden, und ich führe hier folgende Verbindungen von bekannter Konstitution, welche die Gelatinereaktion geben, an:

Gallussäure-methylester, $(HO)_3C_6H_2.CO.OCH_3$.

Digallussäure, $(HO)_3C_6H_2.CO.O.C_6H_2(OH)_2.COOH$.

Luteosäure, $\begin{matrix} CO.C_6H(OH)_2 \\ O-C_6H(OH)_2.COOH \end{matrix}$ (in Pyridinlösung).

Ellagengerbsäure, $\left.\begin{matrix} CO.C_6H(OH)_3 \\ O-C_6H(OH)_2.COOH \end{matrix}\right\} (C_6H_{10}O_5)_2 + 3H_2O$.

Tetragalloyl-ellagsäure, $\begin{matrix} CO.C_6H[O.CO.C_6H_2(OH)_3]_2.O \\ O-C_6H[O.CO.C_6H_2(OH)_3]_2.CO \end{matrix}$.

Dagegen geben keine Fällung mit Gelatinelösung:

Gallussäure, $(HO)_3C_6H_2.COOH$.

Ellagsäure, $\begin{matrix} CO.C_6H(OH)_2.O \\ O-C_6H(OH)_2.CO \end{matrix}$ (in Pyridinlösung).

Pentaoxy-biphenylmethylolid, $\begin{matrix} CO.C_6H(OH)_3 \\ O-C_6H_2(OH)_2 \end{matrix}$.

Hexaoxy-biphenylmethylolid, $\begin{matrix} CO.C_6H(OH)_3 \\ O-C_6H(OH)_3 \end{matrix}$.

Leukodigallussäure[2]), $(OH)_3C_6H_2.CH(OH)O.C_6H_2(OH)_2.COOH$.

Es geben ferner folgende von *Emil Fischer* und *K. Freudenberg*[3]) dargestellte Verbindungen die Gelatinefällung:

Digallussäure[4]), $(OH)_3.C_6H_2.CO.O.C_6H_2(OH)_2.COOH$.

Digentisinsäure, $(OH)_2.C_6H_2.CO.O.C_6H_2(OH).COOH$.

Diprotokatechusäure, $(OH)_2.C_6H_2.CO.O.C_6H_2(OH).COOH$.

Di-β-resorcylsäure, $(OH)_2.C_6H_2.CO.O.C_6H_2(OH).COOH$.

Diese Verbindungen sind als „leimfällende Depside" zu bezeichnen.[5])

---

[1]) *Nierenstein*, Gerberei in *Meyer*s Jahrbuch der Chemie. **16**. 519 (1907). — Derselbe, dieses Handbuch. **2**. 977 (1909). — Derselbe, Beitrag zur Kenntnis der Gerbstoffe. IV. Über Galloylellagsäure. Ber. d. deutschen chem. Ges. **44**. 837 (1912).

[2]) *Nierenstein*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. IX. Mitt. Annalen der Chemie. **388**. 223 (1912).

[3]) *Emil Fischer* und *K. Freudenberg*, Über die Karbomethoxyderivate der Phenolkarbonsäuren und ihre Verwendung für Synthesen. V. Mitt. Annalen der Chemie. **384**. 225 (1911).

[4]) Diese von *Emil Fischer* (Über die Karbomethoxyderivate der Phenolkarbonsäuren und ihre Verwendung für Synthesen. I. Ber. d. deutschen chem. Ges. **41**. 2890 [1908] und *Emil Fischer* und *K. Freudenberg* l. c.) synthetisch erhaltene Digallussäure ist mit der von mir (*Nierenstein*, Zur Konstitutionsfrage des Tannins. VII. Mitt. Ber. d. deutschen chem. Ges. **43**. 630 [1910]) aus dem Tannin isolierten Digallussäure isomer. Vgl. auch *Emil Fischer* und *O. Pfeffer*, Über die Karbomethoxyderivate der Phenolkarbonsäuren und ihre Verwendung für Synthesen. VI. Mitt. Annalen der Chemie. **389**. 199. (1912).

[5]) Vgl. auch Biochemisches Handlexikon. **7**. 793 (1912).

Es gibt auch die Gelatinefällung die Penta-galloyl-glukose[1]). $C_6H_7O_6[CO.C_6H_2(OH)_3]_5$.

IV. Analyse.

Ich gehe hier nur auf die für wissenschaftliche Zwecke verwendbaren analytischen Methoden ein und verweise des weiteren auf die in der Fußnote angeführte Literatur.[2]) Ich habe für die **Extraktion** der Gerbstoffe die *Procter*sche Modifikation der *Koch*schen Methode[3]) mit gutem Erfolg seit fast 10 Jahren angewandt und kann diese nur aufs beste empfehlen (Fig. 34 und 35).

Die Apparatur besteht aus einem heberförmig zweimal rechtwinklig gebogenen Trichterrohr, das am Trichterende mit Seidengaze überzogen und am anderen Ende mit einem Gummischlauch, Schraubenquetschhahn und einem dünnen Glasrohr versehen ist. Der Trichter wird in ein Becherglas gesetzt und durch eine Klemme festgehalten (Fig. 36). In das Becherglas wird Sand (eisenfrei!!) und das Gerbmaterial eingefüllt und alsdann wird Wasser zugegossen. Man erwärmt im Wasserbade zuerst auf 30—40° und läßt langsam (etwa 1—1½ Stunden) ca. 80 cm^3 ablaufen, hierauf wird das Wasserbad auf 100° gebracht, der Ablauf getrennt gesammelt, eingeengt und mit dem ersten Auszug vereinigt. Man muß darauf achten, daß die vereinigten Teile nicht ganz 1 *l* liefern! Nach dem Abkühlen wird genau auf 1 *l* aufgefüllt. Die Lösung wird durch dickes Filtrierpapier (*Schleicher & Schüll* Nr. 602) filtriert.

Fig. 34.

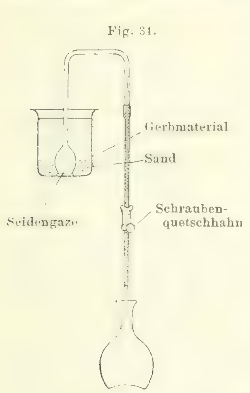
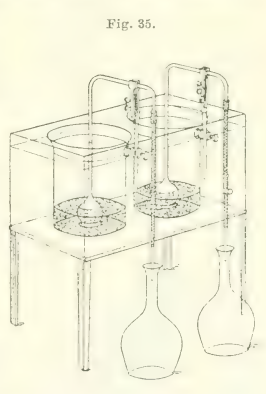


Fig. 35.



---

[1]) *Emil Fischer* und *K. Freudenberg,* Über das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe. Ber. d. deutschen chem. Ges. **45**. 931 (1912).

[2]) *H. R. Procter* und *J. Paessler,* Leitfaden der gerbereichemischen Untersuchungen. Julius Springer. Berlin (1901). — *H. R. Procter,* Leather Industries Laboratory Book. E. & F. N. Spoon. London und New York (1908). — *S. R. Trotman,* Leather Trades Chemistry, C. Griffin & Co. London (1908). — Zur Geschichte vgl. *J. Dekker,* De Loistoffen. J. H. de Bussy. Amsterdam (1906 und 1908). — *M. Nierenstein,* Chemie der Gerbstoffe. F. Enke. Stuttgart (1910).

[3]) *Procter-Paessler,* Leitfaden der gerbereichemischen Untersuchungen. Julius Springer. Berlin (1901). p. 106.

Der Apparat hat den Vorteil, daß er offen ist und daß der Inhalt bei etwaigem Verstopfen mit Hilfe eines Glasstabes umgerührt werden kann. Es seien hier noch die Extraktionsapparate von *Koch*[1]), *Wegner*[2]) und *Auerbach*[3]) erwähnt (Fig. 36—37). Ihre Einrichtung ist den Zeichnungen leicht zu entnehmen. Ich habe mit diesen Apparaten nicht gearbeitet, so daß ich hier auf die Originalliteratur verweise.

Die gewichtsanalytischen Bestimmungen beruhen auf der Bestimmung des Gesamtrückstandes und der Nichtgerbstoffe, die Differenz gibt den Gerbstoffgehalt. Die Bestimmung des „Gesamtrückstandes erfolgt durch Eindampfen eines abpipettierten Teiles. Für gerbstoffreiche Materialien verwendet man 50 *cm*³. Ich habe für gerbstoffarme Pflanzen (1—2% Gerbstoff-150 *cm*³ — sogar mehr — eingedampft). Die Entgerbung für die „Nichtgerbstoffbestimmung" erfolgt mittelst Hautpulver, oder wie ich sie seit fast acht Jahren ausführe, mittelst fettfreiem Kasein.

Fig. 36.

1. Hautpulvermethode. Obwohl das Hautpulver im Handel zu beziehen ist — das käufliche Hautpulver ist dem im Laboratorium dargestellten vorzuziehen — so sei hier die **Darstellung des Hautpulvers** kurz beschrieben. Große Blößenstücke, ungefähr 1 *cm*² groß, werden mit verdünnter Salzsäure, etwa 1% stark, behandelt, bis sie leicht geschwollen sind, und dann unter mehrmaligem Wechseln mit reinem kalten Wasser gewaschen, bis die Säure wieder

[1]) *R. Koch*, Selbsttätiger Extraktionsapparat für Gerbmaterialien usw. *Dinglers* polytechn. Journ. **267**. 513 (1888).

[2]) *M. Wegner*, Eine Abänderung des *Koch*schen Gerbstoffextraktionsapparates. Collegium. **1911**. S. 212.

[3]) *M. Auerbach*, Der *Grasser-Allen*sche Extraktionsapparat. Collegium. **1911**. p. 217.

vollständig entfernt ist. Die Hautstücke werden auf Leinen ausgebreitet und so schnell als möglich in einem kalten Luftstrome getrocknet. Hierauf werden die an der Luft getrockneten Hautstücke nochmals bei höherer Temperatur getrocknet und auf einer eisernen Mühle nach Art der Kaffeemühle gemahlen. Für diese Zwecke eignet sich besser die von der Firma *H. R. Gläser*, Wien, in den Handel gebrachte „Favorita"-Mühle.

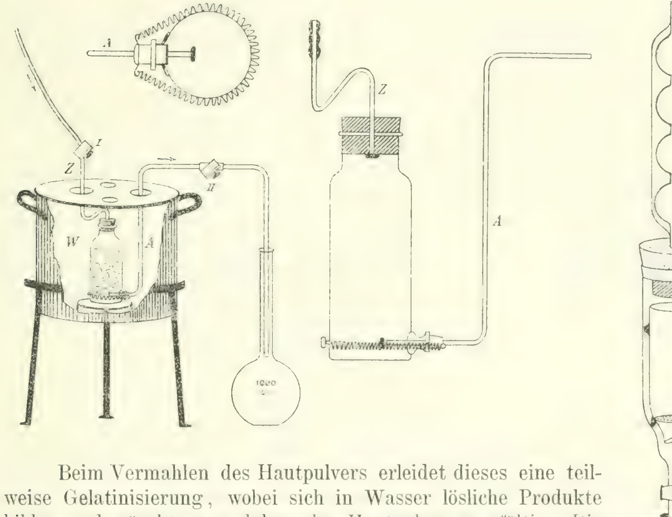


Fig. 37. Fig. 38.

Beim Vermahlen des Hautpulvers erleidet dieses eine teilweise Gelatinisierung, wobei sich in Wasser lösliche Produkte bilden und wäscht man daher das Hautpulver sorgfältig. Die Vermahlung des Hautpulvers bietet große Schwierigkeiten und schlägt öfters fehl. Ich empfehle daher fertiges Hautpulver zu verwenden. Dieses kann von der Versuchsanstalt für Lederindustrie, Freiberg i. S. (Deutschland), der k. k. Lehr- und Versuchsanstalt für Lederindustrie, Rosensteingasse 79, Wien, XVII/3 (Österreich) und Leathersellers Technical College, 176 Tower Bridge Road, London S. E. (England) bezogen werden.

Vorgerben der Blöße mittelst Chrom [1]) oder Formaldehyd [2]) vermindert seine Gelatinisierungsfähigkeit und ist schwach- und starkchromiertes Hautpulver im Handel erhältlich. Es sollen diese ihre Vorteile haben.

Zur Ausfällung des Gerbstoffes bedient man sich des *Procter*schen Glockenfilters, dessen Einrichtung aus der umstehenden Abbildung ersichtlich ist (Fig. 39).

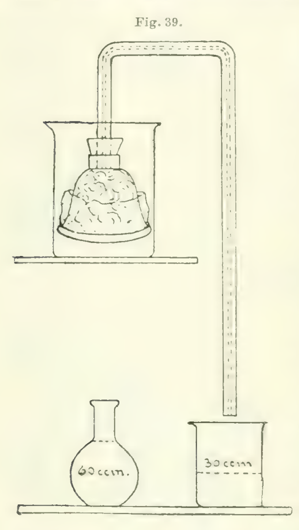
---

[1]) *F. Kopecky*, The chromed Hide-powder question. Collegium. **1906**. p. 97. — Des weiteren sei auf *H. R. Procter*, Leather Industries Laboratory Book (1908) verwiesen.

[2]) *J. G. Parker*, Hide-powder treated with formaldehyde. Collegium. **1906**. p. 404.

Das *Proctersche* Filter[1]) besteht aus einer Glasglocke, deren Verjüngung einen durchbohrten Korkstopfen trägt, durch dessen Öffnung ein zweimal rechtwinklig gebogenes Heber-Kapillarrohr gesteckt ist; das Ende des Rohres schneidet mit dem Stopfen ab. Wenn dieses Glockenfilter für die Gerbstoffabsorption vorbereitet werden soll, so kommt in die Glocke zunächst ein kleiner Bausch von trockener, gut ausgewaschener Baumwolle, welcher ein Eindringen von Hautpulver in das Kapillar verhindern soll. Nunmehr wird die Glocke mit Hautpulver gefüllt, und zwar so, daß dasselbe stark gestopft wird; namentlich an den Rändern muß fester gestopft werden, damit sich die Gerbstofflösung nicht an den Glaswandungen hinanzieht. Zur sachgemäßen Füllung der Glocke sind gewöhnlich 7—8 *g* Hautpulver erforderlich. Hierauf wird auf die untere Öffnung der Glocke ein Stück trockene, sorgfältig ausgewaschene, nicht zu feinmaschige Gaze aufgelegt und diese mit Hilfe eines Gummiringes befestigt. Nunmehr ist das Glockenfilter zum Gebrauche fertig. Zum Zwecke der Absorption spannt man das Heberohr in einer Klemme ein, senkt die Glocke fast bis auf den Boden eines 150—200 cm^3 fassenden Becherglases und gießt in dieses eine kleine Menge der gerbstoffhaltigen Lösung, damit zunächst das Hautpulver infolge der Kapillarwirkung gleichmäßig benetzt wird. Nachdem dieses erreicht ist, gießt man das Becherglas voll und saugt an dem Heberohr schwach an, bis die Lösung langsam abtropft. Das Abtropfen soll so erfolgen, daß auf die Minute 5—8 Tropfen kommen. Die ersten Anteile des Filtrates lassen sich nicht zur Bestimmung der Nichtgerbstoffe verwenden, weil dieselben lösliche Bestandteile des Hautpulvers enthalten. Aus diesem Grunde muß man das Filtrat so lange verwerfen, als noch eine Probe desselben mit einigen Tropfen einer Tanninlösung einen Niederschlag oder eine Trübung liefert. Verwendet man ein gutes Hautpulver, so kann man annehmen, daß der Ablauf von 30 cm^3 dem Filtrat keine Reaktion mit Tanninlösung gibt. Das weitere Filtrat fängt man getrennt auf, am besten in einem kleinen Kölbchen, das ca. 60 cm^3 faßt und mit einer diesbezüglichen Marke versehen ist. Man läßt dasselbe bis zu dieser Marke sich füllen, was in etwa 1½—2 Stunden erreicht ist. Das Filtrat muß vollständig wasserhell sein und darf mit essigsaurem Eisen keine Gerb-

Fig. 39.



[1]) Von *C. Desaga*, Heidelberg, zu beziehen.

stoffreaktion mehr zeigen.[1]) Von dem gerbstofffreien Filtrat wird ein abgemessener Teil abgedampft und auf dem Wasserbade eingedampft.

Zur Prüfung des Hautpulvers verfährt man genau in derselben Weise. nur daß man destilliertes Wasser durch das Hautpulver filtriert. Nachdem die ersten 30 *cm*³ des Filtrates verworfen worden sind, dürfen 50 *cm*³ des Filtrates einen Rückstand geben, der höchstens 5 *mg* wiegt.

Chromiertes Hautpulver eignet sich nicht für *Procter*sche Glocken und verwendet man es daher so, daß man die Gerbstofflösung mit dem Hautpulver in einer breithalsigen Flasche auf der Schüttelmaschine 1 bis 1¼ Stunde schüttelt und durch ein gutes Bariumsulfatfilter filtriert.

2. Gewaschene Tonerdemethode nach *Wislicenus*.[2]) Statt des Hautpulvers verwendet *Wislicenus* „gewaschene Tonerde". Für die Darstellung derselben gibt *Wislicenus* folgendes an. In mit Henkel versehenen emaillierten Kochtöpfen von etwa 14—15 *cm* Durchmesser und gleicher Höhe werden je 200 *g* feiner Aluminiumgrieß von gleichmäßiger Körnung mit 200 *cm*³ 10%iger Natronlauge unter Einschwenken angeätzt. Den entstandenen grauen Schlamm spült man mehrmals hinweg und wiederholt die Anätzung mit etwa 100 *cm*³ Natronlauge, spült wieder öfters ab und gibt 50 *g* Quecksilberchloridlösung hinzu, spült wiederum den grauen Schlamm hinweg, gießt das Wasser ab und setzt ein Gemisch von

2—2·5 *g* Nitrobenzol,
18—20 *g* Äther,
20 *g* Alkohol,
10—20 *g* Wasser

hinzu. Die Masse, die sich stark erhitzt, wird sich selbst einige Stunden überlassen. Dann schwemmt man die aufgeblähte Masse durch Alkohol vom unverbrauchten Aluminium durch Alkohol ab, filtriert auf der Nutsche, läßt die Masse etwas trocknen und glüht in flachen Schamotteschalen bei mäßiger Rotglut im Muffelofen aus. Die weiße Masse wird mit Alkohol oder Äther von den gröberen Krümeln abgeschwemmt und im Exsikkator getrocknet. 1 *g* des trockenen Materials absorbiert 0·3—0·4 *g* Tannin. Die gewaschene

[1]) Soweit meine persönlichen Erfahrungen gehen, so habe ich nie ein Filtrat gehabt, das keine Färbung mit essigsaurem Eisen gegeben hat. Die Färbung war aber nicht auf Gerbstoff, sondern öfters auf Gallussäure zurückzuführen. Die Lösungen gaben nämlich die für Gallussäure charakteristische Rotfärbung mit Cyankali. Erwähnt sei, daß die „Nichtgerbstoffe", wie ich es gefunden habe, beim Tannin optisch inaktiv sind, was mit meiner Auffassung des Tannins, besonders mit meiner Annahme, daß das Tannin kein Glukosid ist, im Einklang steht. [Vgl. *Nierenstein*, Chemie der Gerbstoffe. S. 38. Stuttgart (1910)].

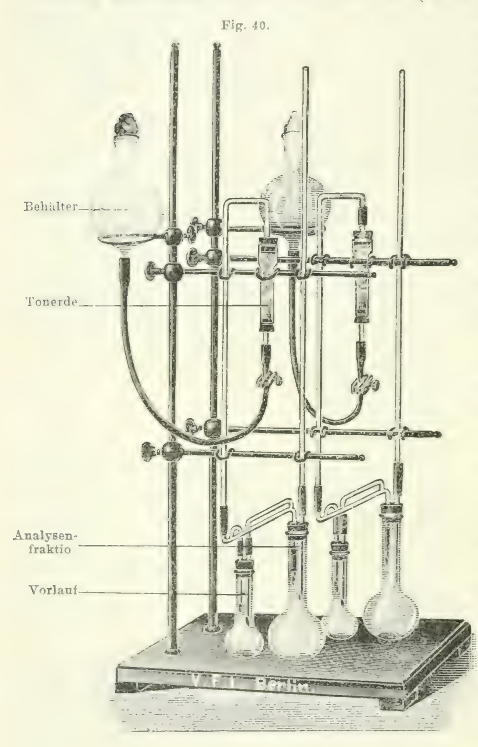
[2]) *H. Wislicenus*, Über Gerbmaterialanalyse mit „gewaschener" Tonerde. Collegium. **1905**. p. 85. — Derselbe, Gerbstoffbestimmung und Hautpulverfrage. Ibid. **1905**. p. 213. — Derselbe, Vorschläge zu den vereinbarten Vergleichsanalysen mit gewaschener Tonerde. Ibid. **1905**. p. 230. — Derselbe, Zur Ausführung der vereinbarten Vergleichsanalysen mit gewaschener Tonerde. Ibid. **1906**. p. 77. — Derselbe, Zur Gerbmaterialanalyse mit gewaschener Tonerde. Ibid. **1906**. p. 316. — *Wislicenus* und *Muth*, Adsorptionsanalyse mit gewaschener Tonerde (Fibroid-Tonerde) zur Ermittlung der relativen Gerbwerte pflanzlicher Gerbmaterialien. Ibid. **1907**. p. 157.

Tonerde nach *Wislicenus* ist auch von der Firma *E. Merck*, Darmstadt, zu beziehen.

Die Ausführung der Analyse erfolgt in dem untenstehenden „automatischen Apparat" nach *Wislicenus* und *Muth* (Fig. 40).

Der Apparat besteht aus dem Behälter, aus der Filterröhre, die mit Tonerde beschickt ist, aus dem Vorlauf (30 cm^3) und dem Analysator, der die Analysenfraktion enthält und auf 110 cm^3 eingestellt ist. Das Filterrohr wird mit 2·5 *g* Tonerde beschickt. Der Behälter wird wiederum mit 250 bis 300 cm^3 der Gerbstofflösung gefüllt. Man setzt den Apparat in Betrieb, indem man das Flüssigkeitsniveau etwa 15 cm^3 über den höchsten Teil des Hebers stellt, öffnet den Quetschhahn und überläßt den Apparat sich selbst, bis die Flüssigkeit nach dem Vorlaufkölbchen abgeleitet zu werden beginnt. Jetzt beginnt man die Durchlaufsgeschwindigkeit durch Tiefsetzen des Vorratsgefäßes zu regulieren. Um die durchgehende Flüssigkeit stets wenigstens 20 bis 30 Minuten mit der Tonerde in Berührung zu halten, muß das Gesamtfiltrat von rund 150 cm^3 sehr langsam (innerhalb 5—6 Stunden, besser 12—14 Stunden) aufgefangen werden.

Fig. 40.



3. Kaseinmethode nach *Körner* und *Nierenstein*.[1]) Für die Analyse verwendet man sorgfältig durch Extraktion mit Äther entfettetes Kasein nach *Hammarsten (Kahlbaum)*. 100 cm^3 des Gerbstoffauszuges werden mit 6 *g* Kasein 10 Minuten geschüttelt und hierauf mit weiteren 6 *g* Kasein behandelt und durch ein Bariumsulfatfilter filtriert. Darauf wird

[1]) *Nierenstein*, Über die quantitative Bestimmung der Gerbstoffe bzw. des Tannins mittelst Kaseins. Chemikerzeitung. **36**. 31 (1911).

wie bei der Hautpulveranalyse verfahren.[1] Die Methode gibt gute Zahlen. Sie eignet sich für Zuckerbestimmungen in Gerbstofflösungen.[2] Das Kasein absorbiert keine Gallussäure.[3] Auch eignet sich diese Methode für elektrische Leitfähigkeitsbestimmungen des Tannins.[4]

Von den volumetrischen analytischen Methoden sei hier besonders die sogenannte *Löwenthal*sche Permanganatmethode[5] beschrieben. Im Prinzip beruht sie auf der Oxydation der Gerbstoffe durch Kaliumpermanganat in Gegenwart von Indigo als Indikator. Diese Methode ist öfters für botanische Zwecke verwandt worden, ohne darauf zu achten, daß Permanganat nicht nur „Gerbstoff" oxydiert. Besonders sei erwähnt, daß auch *Löwenthal* selbst anerkannt hat, daß der Indigo nicht nur die Rolle eines Indikators spielt, sondern daß er gewissermaßen den ganzen Oxydationsprozeß auf gewisse Körper beschränkt und daß er die Oxydation von Substanzen, die beständiger sind als er selbst, verhindert!!

Zur Ausführung der *Löwenthal*schen Methode sind folgende Lösungen und Substanzen erforderlich:

1. Lösung von übermangansaurem Kali 10 *g* $KMnO_4$ in 6 *l* destilliertem Wasser.

2. Indigolösung. 10 *g* indigschwefelsaures Natrium (reines Indigotine Ia von *Gehe & Co.*, Dresden, zu beziehen) in 1 *l* Wasser. 20 *cm*³ dieser

[1]) Gemeinsam mit den Herren *E. Drabble, D. Spence, H. E. Roaf, T. A. Webster, L. R. Thompson* und *R. J. Manning* habe ich ca. 1000 Analysen nach dieser Methode ausgeführt.

[2]) *Nierenstein,* Über das Drehungsvermögen des Tannins. Chemikerzeitung. **34.** 15 (1909).

[3]) *Nierenstein,* Zur Konstitutionsfrage des Tannins. IX. Mitt. Annalen der Chemie. **388.** 223 (1912).

[4]) *Nierenstein* und *R. J. Manning,* noch nicht veröffentlicht.

[5]) *Löwenthal,* Gerbstoffbestimmung. Zeitschr. f. analyt. Chemie. **5.** 838 (1866). — Derselbe, Über die Bestimmung des Gerbstoffes. Ibid. **16.** 33 (1877). — Derselbe, Quantitative Gerbsäurebestimmung. Ibid. **20.** 91 (1881). — Vgl. auch *Cech,* Kritische Prüfung der technischen Gerbstoffbestimmungsmethoden. Ibid. **7.** 130 (1867). — *Büchner,* Kritische Besprechung verschiedener Gerbstoffbestimmungsmethoden. Ibid. **7.** 139 (1867). — *Günther,* Beurteilung der analytischen Methoden, welche zur Bestimmung des im Katechu, Kino, der Ratanhia und einiger anderen gebräuchlichen Drogen vorhandenen Gerbstoffe zur Verfügung stehen. Pharm. Zeitschr. Rußlands. **9.** 161 (1870). — *Neubauer,* Über die quantitative Bestimmung des Gerbstoffgehaltes der Eichenrinde. Zeitschr. f. analyt. Chemie. **10.** 1 (1871). — *Wagner,* Beiträge zur Technologie der Gerbstoffe. *Dingler*s Polytechn. Journ. **205.** 137 (1872). — *Escourt,* The estimation of tannic acid in thea. Chem. News. **29.** 109 (1874). — *Procter,* Zum quantitativen Nachweis der Gerbstoffe. Zeitschr. f. analyt. Chemie. **14.** 326 (1874). — *J. Oser,* Über die Gerbsäuren der Eiche. Wiener akad. Ber. **71.** (II. Abt.). 165 (1875). — *Kathreiner,* Beitrag zur Kenntnis einiger Gerbstoffbestimmungsmethoden. *Dingler*s Polytechn. Journ. **227.** 481 (1878). — *E. Davies,* On the estimation of tannins. Pharm. Journ. (London). (3.) **10.** 536 (1880). — *Ulbrich,* Zur Gerbstoffbestimmung nach der *Löwenthal*schen Methode. Ber. d. deutschen chem. Ges. **18.** 116 (1886). — *Julius v. Schroeder,* Gerbereichemie. Gesammelte Werke. Herausgegeben von *F. A. Günther*s Zeitungsverlag. Berlin (1898). (Die Methode führt den Namen *„Löwenthal-Schroeder"*.) Des weiteren sei hier auf Kapitel XII in *Procter-Paessler*s Leitfaden der gerbereichemischen Untersuchungsmethoden verwiesen.

Lösung mit ³/₄ l Wasser verdünnt dürfen nicht mehr als 10—11 *cm*³ $KMnO_4$ verbrauchen.

3. 2 *g* reinstes Tannin des Handels in 1 *l* Wasser. Diese dient zur Titerstellung.

4. Hautpulver. Dieses muß weiß sein und darf an kaltes Wasser keine Bestandteile abgeben, welche Chamäleonlösung reduzieren. Eine blinde, mit 3 *g* Hautpulver und 50 *cm*³ Wasser auszuführende Bestimmung (Näheres hierüber weiter unten) gibt Aufschluß.

Ausführung der Titration. In eine flache weiße Eindampfschale, welche etwa 1·5 *l* faßt, bringt man ³/₄ *l* destilliertes Wasser, 20 *cm*³ Indigolösung und 10 *cm*³ des verdünnten[1]) Gerbmaterialauszuges. In diese Mischung läßt man eine Glasbürette immer auf einmal 1 *cm*³ Chamäleonlösung einfließen und rührt nach jedem Zusatze mit einem Glasstab 5 bis 10 Sekunden stark und gleichmäßig um. Ist die Flüssigkeit durch den fortgesetzten Zusatz von Chamäleonlösung hellgrün geworden, so setzt man vorsichtig nur noch 2—3 Tropfen auf einmal zu, rührt um und fährt damit fort, bis die Flüssigkeit rein goldgelb geworden ist. Dies ist der Endpunkt der Reaktion. In weiteren 50 *cm*³ Gerbstofflösung werden die Gerbstoffe durch Schütteln mit 3 *g* Hautpulver[2]) niedergeschlagen. 10 *cm*³ der durch Leinwandfilter filtrierten Lösung werden in gleicher Weise titriert. Die Differenz gibt den Gerbstoffgehalt.

Es verlangen 10 *cm*³ einer 0·1%igen Lösung der unten angeführten Säuren folgende Mengen der Kaliumpermanganatlösung[3]):

Gallussäure	= 21·60 *cm*³
Digallussäure	= 26·70 „
Leukodigallussäure	= 28·10 „

Für die quantitative Gerbstoffbestimmung kommen auch eine Reihe von Anilinfarbstoffen und Alkaloiden in Betracht. Es basieren die analytischen Methoden mit basischen Farbstoffen auf der Annahme, daß dieselben nur Tannin, dagegen nicht Gallussäure in Gegenwart von Natrium-

[1]) Für Tanninum lev. pur. *Schering* findet *R. J. Manning* 0·1% Tannin als geeignete Verdünnung.

[2]) Nach *Hunt* kann man die Gerbstoffe durch Gelatine niederschlagen. Es soll diese Methode ihre Vorteile haben. Vgl. *Procter-Paessler,* Leitfaden der gerbereichemischen Untersuchungen. S. 130. Erwähnt sei, daß ich gemeinsam mit *R. J. Thompson* Kasein für diese Zwecke verwendet habe. Die so erhaltenen Werte für Tannin fielen um ca. 0·8% höher aus, was auf die große Beständigkeit des Kaseins in Wasser zurückzuführen ist. Wir erhielten ferner gute Werte — die Differenzen betragen 0·3% der Theorie — bei der Untersuchung von Gemischen aus Tanninum levissimum pur. *Schering* und Gallussäure. Für die Entgerbung verwenden wir 3 *g* fettfreies Kasein für je 50 *cm*³ einer 0·5%igen Tannin- und Gallussäurelösung. Diese Methode eignet sich zur quantitativen Bestimmung von Digallussäure in Gegenwart von Leukodigallussäure. Während die Digallussäure einer 0·5%igen Digallussäurelösung quantitativ gebunden wird, bleibt die Leukodigallussäure in einer 0·5%igen Lösung unabsorbiert zurück [vgl. *Nierenstein,* Zur Konstitutionsfrage des Tannins. IX. Mitt. Annalen der Chemie. 388. 224 (1912)].

[3]) *Nierenstein* und *R. J. Manning,* Zur Konstitutionsfrage des Tannins. X. Mitt. Ber. d. deutschen chem. Ges. 45. 1549 (1912).

azetat fällen. *E. Knecht* und *E. Hibbert*[1]) haben diese Frage in eingehender Weise untersucht und festgestellt, daß **alle basischen Farbstoffe in Gegenwart von Natriumazetat auch Gallussäure fällen.** Für ihre Untersuchungen haben sie u. a. Magenta, Malachitgrün, Safranine, Methylenblau usw. verwandt. Die einzige Ausnahme bildet nach *Knecht* und *Hibbert* ein von Dr. *F. Sandmeyer* für diese Zwecke eigens dargestellter und im Handel nicht erhältlicher Farbstoff der Patentblaureihe, dem folgende Konstitution zukommt:

SO_3 ... $= N.(CH_3)_2$

C

CH_3 ... $= N.(CH_3)_2$

Es ist leicht möglich, daß sich dieser Farbstoff für pflanzenphysiologische Untersuchungen verwenden lassen wird und habe ich ihn aus diesen Gründen angeführt.

Ferner seien auch noch folgende Alkaloide, die sich für quantitative Gerbstoffbestimmungen zu eignen scheinen, erwähnt, und zwar: Chinin[2]), Cinchonin[3]) und Strychnin.[4]) Gemeinsam mit Herrn *F. L. Harris* habe ich es versucht, Chinin für diese Zwecke zu verwenden. Wir haben seinerzeit die Chinintannate dargestellt und aus dem Stickstoffgehalt den Gerbstoffgehalt zu berechnen versucht. Die so erhaltenen Werte fielen aber keinesfalls befriedigend aus, so daß wir von einer weiteren Bearbeitung der Methode absehen mußten.

[1]) *E. Knecht* und *E. Hibbert*, New reduction methods in volumetric analysis. London (1910). Herr Prof. *E. Knecht* hat mir gelegentlich die Unzuverlässigkeit dieser Methoden demonstriert und habe ich mich auch in einer Reihe von Versuchen von der Richtigkeit dieser von *Knecht* und *Hibbert* festgestellten Tatsache überzeugt. — Von Arbeiten, die sich mit der Verwendung von Anilinfarben für Gerbstoffanalysen befassen, seien folgende angeführt: *F. Becker*, Tanninbestimmung. Chemikerzeitung. **19**. 534 (1885). *G. Ullmann*, Prüfungsmethoden der in der Färberei verwendeten Gerbmaterialien und der basischen Farbstoffe. Ibid. **23**. 1014 (1889), *Specht* und *Lorentz*, Zur Bestimmung des Tannins. Ibid. **24**. 92 (1900). *Noelting*, Zur Wertbestimmung von Gerbstoffen für Färberei und Zeugdruckerei. Ibid. **27**. 592 (1903).

[2]) *A. Laroque*, Nouvelles recherches pour servir à l'histoire de l'acide gallique. Journ. Pharm. **27**. 197 (1841).

[3]) *R. Wagner*, Beiträge zur Kenntnis und zur quantitativen Bestimmung der Gerbsäuren. Journ. f. prakt. Chemie. **99**. 294 (1866).

[4]) *S. R. Trotman* and *J. E. Hackford*, Strychnine tannate and its use in the analysis of tanning materials. Collegium. **1906**. p. 67.

Die Methoden zur Bestimmung der chemischen Lichtintensität für biologische Zwecke.

Von **V. Vouk**, Wien.

Der Biologe, speziell aber der Physiologe will sehr oft wissen, wie groß die Intensität des Sonnen- bzw. des diffusen Lichtes ist, unter welchem gewisse Prozesse ablaufen. Auch die Biochemiker untersuchen in neuester Zeit die verschiedenartigen chemischen Prozesse, die vermittelst der Sonnenenergie vor sich gehen — ich verweise diesbezüglich auf die Arbeiten von *Beurath*, *Cimician* und *Silber*, *Neuberg*, *Inghilleri* und anderen — und es hat auch für diese die Intensität des Lichtes eine Bedeutung.

Wiesner hat bei seinen Lichtgenußstudien [1]) eine Methode der Messung der Lichtintensität in die Pflanzenphysiologie eingeführt, die an Einfachheit und Bequemlichkeit alle aktinometrischen Methoden [2]) übertrifft und die sich speziell für biologische Zwecke sehr eignet. Zu betonen ist es, daß man mit Hilfe dieser Methode speziell die Intensität der stark brechbaren sog. chemischen Lichtstrahlen bestimmen kann.

Das Prinzip der Methode nach Bunsen und Roscoë.

Diese von *Bunsen* und *Roscoë* begründete Methode der Lichtmessung beruht auf der von den beiden Forschern aufgestellten photographischen Reziprozitätsregel, welche lautet: gleichen Produkten aus Lichtstärke (i) und Belichtungszeit (t) entsprechen gleiche photographische Wirkungen, d. h.

$$it = i' t'.$$

Bunsen und *Roscoë* haben für die Wirkung von „it" eine bestimmte sog. Normalschwärze als Einheit genommen und mittelst eines sog. Normalpapiers (Chlorsilberpapier) die Intensität (i') des Lichtes nach der Formel

$$i' = \frac{1}{t'}$$

[1]) *J. Wiesner*, Der Lichtgenuß der Pflanzen. Leipzig 1907.

[2]) Andere Methoden der Lichtmessung vergleiche in *J. M. Eder:* Die Photographie bei künstlichem Licht, Spektrumphotographie, Aktinometrie und die chemischen Wirkungen des farbigen Lichtes. Ausführliches Handbuch der Photographie. Bd. I. 3. Teil. Verlag W. Knapp, Halle a. S. 1912.

bestimmt. Die Lichtintensität, welche in einem Zeitraum von 1 Sekunde den Farbenton der Normalschwärze (Normalton) erzeugt, wird nach *Bunsen* und *Roscoë* als Einheit 1 bezeichnet. Man bestimmt also die Lichtintensität in der Weise, daß man das Normalpapier solange belichtet, bis der Normalton erreicht wird: der reziproke Wert der Anzahl der Sekunden t' gibt uns die gesuchte Intensität i' in *Bunsen-Roscoë*-Einheiten.

Dies ist das Prinzip der Methode der Lichtmessung, die später von *Wiesner* für biologische Zwecke angewendet wurde.

Photometer nach Wiesner.

Zur Bestimmung der chemischen Lichtintensität nach *Wiesner* benötigt man

1. das Normal- oder *Bunsen-Eder*-Papier,
2. einen Normalton bzw. einige Skalentöne,
3. einen Insolator und
4. ein Chronometer (Stoppuhr).

Anfertigung des Normalpapiers.

Das Normalpapier kann man sich in einfacher Weise selbst herstellen. Man durchtränkt für photographische Zwecke benutztes Papier, sog. 8 oder 10 *kg*-Rives-Papier 5 Minuten lang mit einer 3%igen Kochsalzlösung und läßt das gesalzene, lufttrocken gewordene Papier bei möglichstem Ausschluß chemisch wirksamen Lichtes auf einer 12%igen Lösung von Silbernitrat 2 Minuten hindurch schwimmen, worauf man es bei Lichtabschluß trocknet. Dieses Normalpapier kann man nach dem Trocknen an der Luft 15—24 Stunden im Dunkeln aufbewahren, ohne daß sich an demselben eine bemerkbare Änderung in der Lichtempfindlichkeit zeigt. Die Empfindlichkeit dieses Papiers bleibt unverändert, mag die Silberlösung 15 Sekunden oder 8 Minuten mit dem gesilberten Papier in Berührung gewesen sein. Der Prozentgehalt des Silberbades darf nicht kleiner als 8 oder größer als 12 sein. Es ist noch zu bemerken, daß es nötig ist, eine Lösung von stets gleichem Kochsalzgehalt anzuwenden. Die Unterschiede in den atmosphärischen Temperaturen und Feuchtigkeitsgraden sind auf die Lichtempfindlichkeit ohne Einfluß.

Das haltbare Bunsen-Eder-Papier.

Da das *Bunsen*-Normalpapier nur innerhalb 24 Stunden brauchbar ist, so ist es zweckmäßiger, das sog. *Bunsen-Eder*-Papier zu benützen, das auch jahrelang haltbar ist. Das *Bunsen*sche Normalpapier wird nach *Eder* vom überschüssigen Silbernitrat befreit und mit salpetrigsaurem Kali (Kaliumnitrit) sensibilisiert. Nach *Eder* (l. c. S. 144) wird dieses Papier genau in folgender Weise hergestellt: Das in oben angegebener Weise verfertigte *Bunsen*-Normalpapier wird in reichlicher Menge destillierten

Wassers gewaschen und hierauf in einer Lösung von 1 Teil salpetrigsaurem Kali (KNO_2) in 20 Teilen Wasser 5 Minuten lang gebadet und zum Trocknen aufgehängt. Das Papier nimmt ganz gut den *Bunsen*schen Normalfarbenton an, welchen man besonders sicher ablesen kann, wenn man ein gelbes Glas bei der Ablesung vor die Augen nimmt. Dieses Papier ist jedenfalls zu empfehlen, da es einerseits haltbar ist und andrerseits auch käuflich bei der Firma *R. Lechner (Wilh. Müller)* in Wien zu haben ist.

Relation oder Faktor vom Bunsen-Eder-Papier.

Das *Bunsen-Eder*-Papier ist je nach der Vorbereitung mehr oder weniger empfindlich als das *Bunsen*sche Normalpapier und daher muß man die mit *Bunsen-Eder*-Papier gewonnenen Werte auf *Bunsen*sches Normalpapier umrechnen. Bei käuflichem *Bunsen-Eder*-Papier ist die sog. „Relation“ oder „Faktor“ auf dem Umschlag angegeben, jedoch zur Kontrolle ist es zu empfehlen, diese Relation auch selber durchzuführen.

Die Bestimmung des Faktors wird in folgender Weise durchgeführt: Neben einen Skalenton legt man links einen Streifen des *Bunsen-Eder*-Papiers, rechts *Bunsen*-Normalpapier und exponiert dann zu gleicher Zeit dem diffusen Tageslichte. Wenn zur Erreichung des Normaltones das *Bunsen*-Normalpapier 14 Sekunden und das *Bunsen-Eder*-Papier 10 Sekunden braucht, so sind die daraus berechneten Intensitäten:

$$JBN = \frac{1}{14} = 0{\cdot}071$$

$$JBE = \frac{1}{10} = 0{\cdot}1$$

Die berechneten Intensitäten verhalten sich also

$$0{\cdot}071 : 0{\cdot}1 = x : 1$$

$$x = 0{\cdot}71 = \text{Intensitätsfaktor.}$$

Mit diesem Faktor muß man jeden Intensitätswert bei Gebrauch von *Bunsen-Eder*-Papier multiplizieren. Beispiel: Damit auf dem *Bunsen-Eder*-Papier der Skalenton 2·5 erscheine, wären 14 Sekunden erforderlich. Die Intensität wäre somit, wenn sie mit Normalpapier ausgeführt würde, $2{\cdot}5 : 14 = 0{\cdot}178$. Würde nur die Intensitätsrelation bzw. der Faktor 0·7 betragen, so hätte man 0·178 mit 0·7 zu multiplizieren

$$0{\cdot}178 \times 0{\cdot}7 = 0{\cdot}125.$$

Jenachdem, ob *Bunsen-Eder*-Papier mehr oder weniger empfindlich als *Bunsen*-Normalpapier ist, wird der Faktor größer oder kleiner als 1.

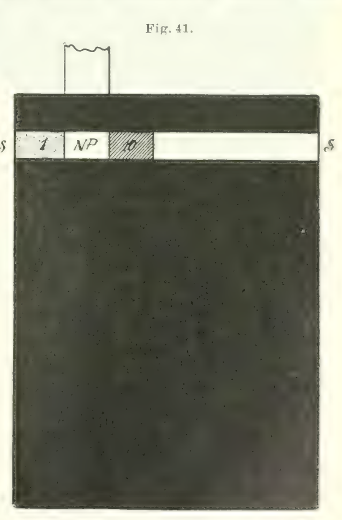
Normalton und Skalentöne.

Die Normalschwärze wird auf folgende Weise hergestellt. 1000 Gewichtsteile chemisch reinen Zinkoxyds werden mit 1 Teil reinster Rußkohle gut gemischt. Dieses innige Gemenge ist ein graues feines Pulver, das mit gelöster Gelatine gebunden als Deckfarbe auf weißen Karton auf-

getragen wird. Auf diese Weise bekommt man den Normalton oder den sog. Einserton. Nur wenn der Normalton mit der größten Genauigkeit hergestellt wird, sind die mittelst desselben gewonnenen Intensitätsbestimmungen mit den von *Bunsen* und *Roscoë* ermittelten Werten vergleichbar. Der Normalton hat eine taubengraue Färbung und er nähert sich dem Ton der *Radde*schen internationalen Farbenskala 20 Blau, erster Übergang in Violett u. Dieser Ton ist eigentlich etwas tiefer und entspricht dem Ton 1·3.

Die Lichtbestimmung mittelst Einsertones ist bei höheren Intensitäten ziemlich unsicher und daher benützte *Wiesner* Skalentöne von verschiedenem Werte, die er durch Mischung von Schwarz, Blau (Outremer Kobalt) und etwas Rot der *Lefranc*schen Farben hergestellt hat. Wenn z. B. bei einer bestimmten Lichtintensität 5″ erforderlich sind, damit auf dem Normalpapier der Einserton zum Vorschein kommt und wenn 35″ nötig sind, damit auf dem Normalpapier ein seinem Werte nach zu bestimmender Farbenton entstehe, ist dieser Skalenton gleich 6·6. Um mit Zuhilfenahme dieses Skalentones die Lichtintensität zu erhalten, muß ich die Zahl 6·6 durch die Zahl der Sekunden dividieren, welche erforderlich waren, um auf dem Normalpapier diesen Skalenton hervorzubringen. Unter der Kontrolle des Herrn Hofrates Prof. Dr. *J. Ritter v. Wiesner* sind von der Firma *R. Lechner (W. Müller)* in Wien einige Skalentöne (2·63, 5·53 und 12·22) hergestellt worden und sie werden von derselben Firma zusammen mit dem Insolator geliefert. Es empfiehlt sich, bei schwachem diffusen Lichte den niedrigen Skalenton (2·6) und bei starkem Sonnenlichte den hohen (12·5) Ton zu benützen.

Fig. 41.



Der *Wiesner*sche Insolator.

Wiesnerscher Insolator.

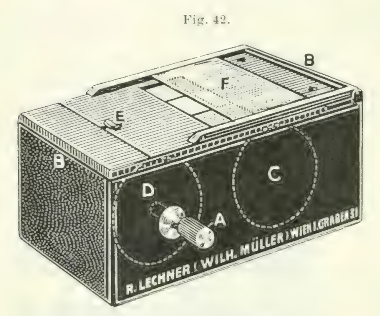
Der *Wiesner*sche Insolator ist ein einfaches Holzbrettchen, das mit schwarzem Papier umkleidet ist (Fig. 41) und nur einen 1 *cm* breiten Ausschnitt (s) besitzt. In diesem Ausschnitt befinden sich die Streifen des *Bunsen-Eder*-Papiers und die Skalentöne. Der Streifen des lichtempfindlichen Papiers wird nach jeder Bestimmung um einen kleinen Teil weitergeschoben. Die Töne und das Papier werden mit einem gelben Glas zugedeckt. Zur Messung der Sekundenzahl wird ein Chronometer (Stoppuhr) benützt. Dieser Insolator ist sehr einfach,

nur gestattet er eine kleine Anzahl von Bestimmungen, da die Streifen nur etwa 10—15 *cm* lang sind. Da aber bei den Lichtbestimmungen im Freien oft kein dunkler Raum zum Einschieben neuer Streifen vorhanden ist, habe ich diesen Insolator durch die Anwendung des Rollenpapiers soweit verbessert, daß man mit meinem Insolator auch 400 Bestimmungen ohne Unterbrechung durchführen kann.[1])

Insolator nach Vouk.

Der verbesserte *Wiesner*sche Insolator[2]) ist ein schwarz adjustiertes Kästchen (Länge 8 *cm*, Breite 4 *cm*, Höhe 4 *cm*), in welchem sich zwei Spulen befinden, wovon eine mit zirka 4 *m* langem und 1 *cm* breitem *Bunsen-Eder*-Papier versehen ist. Der Vorteil dieser Anordnung besteht, wie erwähnt, darin, daß man zirka 400 Belichtungen in bequemer Weise vornehmen kann, ohne das Papier wie bisher wechseln zu müssen.

Fig. 42.



Der Insolator nach *Vouk.*

Die wesentlichen Bestandteile des Apparates sind:

A. Der Schlüssel, der durch Linksdrehen die Einstellung des Papiers besorgt und durch Rechtsdrehen bei Einfüllen neuer Spulen herausgenommen wird.

B. Die obere Platte, die fest und lichtdicht am Kästchen sitzt und die beim Einsetzen neuer Spulen abgehoben wird.

C. Die Spule 1, an der das lichtempfindliche Papier aufgewickelt ist.

D. Die Spule 2, auf die das belichtete Papier durch Linksdrehen des Schlüssels aufgewickelt wird.

E. Ein kleiner Reiber, mit welchem die dünne Metallplatte, unter der die entsprechenden Skalentöne links und rechts vom *Bunsen-Eder*-Papier eingelegt werden, befestigt ist.

F. Die gelbe Glasscheibe, die in einem Geleise frei sich bewegen kann.

Der Insolator wird in folgender Weise benützt. Man hält den Insolator in der linken Hand horizontal, und zwar so, daß das gelbe Glas auf den Skalentönen ruht. In der rechten Hand hält man den Chrono-

[1]) *V. Vouk,* Ein neuer, verbesserter *Wiesner*scher Insolator zur Bestimmung des Lichtgenusses. Ber. d. Deutschen bot. Ges. 1912.

[2]) Die Firma *R. Lechner (W. Müller)* in Wien hat den erwähnten Apparat in Handel gebracht.

meter (Sekundenuhr) und im Momente der Exposition wird zu gleicher Zeit die Uhr in Gang gesetzt und der Insolator schief gestellt, so daß das gelbe Glas von den Skalentönen herabgleitet und sie frei läßt. Im nächsten Momente kann man den Insolator wieder horizontal stellen, wobei sich das gelbe Glas nicht bewegt. Im Momente der Erreichung eines bestimmten Skalentones wird der Insolator wieder schief gestellt, das gelbe Glas gleitet zurück und bedeckt die Töne. Zu gleicher Zeit wird die Uhr gestoppt und man liest die Anzahl der Sekunden ab, aus welcher man die Intensität des Lichtes in *Bunsen-Roscoë*-Einheiten in bekannter Weise berechnen kann.

Die Handhabung des Apparates ist sehr einfach und die Ausstattung ist eine vollkommen dem Zwecke entsprechende, da dieser einerseits lichtdicht und andrerseits handlich ist.

Die Bestimmung des diffusen und direkten Sonnenlichtes.

Zur Bestimmung der chemischen Intensität des diffusen Tageslichtes und des direkten Sonnenlichtes gibt *Wiesner* folgendes Verfahren an: „Man richtet bei Sonnenschein den ordnungsmäßig adjustierten Insolator horizontal, aber so, daß er von der vollen Sonne getroffen wird, indem man sich genau der Sonne gegenüberstellt. Es wird nun die Zeit bestimmt, welche erforderlich ist, damit auf dem Normalpapier der Normalton bzw. ein Skalenton erscheint. Nun wendet sich der Beobachter um 180°, so daß er die Sonne genau im Rücken hat und der Insolator bzw. das Normalpapier im Schatten seines Kopfes zu liegen kommt. Alsdann wird die Zeit bestimmt, welche nötig ist, damit auf dem Normalpapier der Ton erscheint. Die hierbei erhaltenen Zeiten sind der Intensität des Gesamtlichtes (Jg) bzw. der Intensität des diffusen Lichtes (Jd) umgekehrt proportional. Es würde z. B. ein Zeitraum von 8 Sekunden erforderlich sein, damit bei Sonnenbeleuchtung der Ton 1 auf dem Normalpapier zum Vorschein kommt und 27 Sekunden, damit dieser Ton auf dem durch meinen Kopf beschatteten Normalpapier erscheint. Es ist dann $Jg = 1 : 8 = 0{\cdot}125$; $Jd = 1 : 27 = 0{\cdot}037$, mithin ist die Intensität des direkten Sonnenlichtes

$$Js = Jg - Jd = 0{\cdot}088.$$

Die Benützung verschiedener photographischer Papiere.

Außer den früher erwähnten photographischen Papieren ist öfters versucht worden, auch andere lichtempfindliche Papiere zu benützen. *Wiesner* selbst empfiehlt zu relativen Lichtgenußbestimmungen das Rhodamin B-Papier von *Andressen*, welches durch fast alle Anteile des sichtbaren Spektrums (von B bis H und weiters noch durch die ultravioletten Strahlen) geschwärzt wird und innerhalb weiter Grenzen dem Gesetze $Jt = J't'$ Genüge leistet. Dieses Papier wird in folgender Weise hergestellt[1]: Man

[1]) *M. Andressen* (Berlin), Zur Aktinometrie der Sonne. Photogr. Korrespond. 1898.

badet photographisches Rohpapier 5 Minuten lang in einer Auflösung von 61 *g* Bromkalium in 1000 *g* Wasser und trocknet es an der Luft, indem man die einzelnen Stücke vertikal aufhängt. Darauf sensibilisiert man bei rubinrotem Lichte durch Schwimmenlassen des trockenen Papiers auf einer 12%igen Silbernitratlösung während 2 Minuten. Hierauf wässert man, ohne das Papier zu trocknen, alle löslichen Salze aus. Die gewässerten Papiere badet man nunmehr während 5 Minuten in einer Lösung von

100 cm^3 Wasser,

6 *g* Natriumnitrat,

5 cm^3 einer alkoholischen Lösung von Rhodamin B im Verhältnis 1:200 und trocknet im Dunkeln, indem die einzelnen Stücke in Klammern wiederum vertikal aufgehängt werden. Dieses Papier kann besonders in denjenigen Fällen benützt werden, wo vornehmlich die roten Lichtstrahlen in Betracht kommen.

Kreussler[1]) arbeitete mit Kaliumbichromatpapier und *Kissling*[2]) mit Kaliummonochromatpapier, welches letztere sehr lichtschwach ist.

Mängel der Methode.

Ich habe bereits einmal erwähnt, daß man mittelst Normalpapiers nur die chemischen Lichtintensitäten, d. h. die Stärke des Lichtes von Blau bis Ultraviolett bestimmen kann, und da dieses für gewisse physiologische Prozesse (Kohlensäureassimilation, Chlorophyllbildung) nicht von besonderer Bedeutung ist, so hat die direkte Messung der chemisch wirksamen Strahlen in diesen Fällen wenig Sinn. Handelt es sich aber nicht um absolute, sondern nur um relative Werte, so wird man die zu gleichen Zeiten an einem bestimmten Erdpunkt mit dem Normalpapier gewonnenen Resultate unbedenklich als angenähert für die ganze Strahlung geltende Vergleichswerte betrachten dürfen. Wenn z. B. die chemische Intensität des gesamten Tageslichtes 1·225 betragen würde und wir fänden, daß eine Pflanze auf ihrem Standort zu gleicher Zeit einer Lichtstärke = = 0·245 ausgesetzt ist, so gilt das Verhältnis 0·245 : 1·225 = $^1/_5$ nicht nur für chemische, sondern, wenigstens sehr angenähert, auch für alle anderen Bezirke des Spektrums (*Wiesner*). Dies gilt natürlich nur für höhere Sonnenstände, da sich die spektrale Zusammensetzung besonders bei niederen Sonnenständen ändert.

Wiesner selbst gibt die Ungenauigkeiten der Methode zu, trotzdem aber hat uns diese Methode — eine bessere existiert bisher nicht — wichtige Resultate in der Pflanzenphysiologie und Klimatologie geliefert.

Ich möchte noch auf einen wichtigen Umstand bei diesen Lichtmessungen aufmerksam machen. Es ist nämlich einige Übung nötig, um die

[1]) *W. Kreussler*, Eine Methode für fortlaufende Messungen des Tageslichtes. Landwirtschaftl. Jahrb., Bd. 2 (1878).

[2]) *Kissling*, Beiträge zur Kenntnis des Einflusses der chemischen Lichtintensität auf die Vegetation. Halle 1895.

Übereinstimmung des Normaltones bzw. der Skalentöne mit der im Lichte erfolgenden Färbung des Normalpapiers zu finden. Wenn man aber die Augen ganz wenig zudrückt und so die Töne betrachtet, nachher aber unter dem gelben Glase vergleicht, so gelingt es, den gewünschten Ton sehr genau zu finden. Findet man aber, daß der Ton noch nicht erreicht ist, so setzt man die Einwirkung des Lichtes fort, nachdem man das Glas wieder entfernt und den Insolator in die richtige Lage gebracht hat.

Bewölkung.

Bei den Angaben der Intensität des Tageslichtes soll auch jedesmal die Bewölkung berücksichtigt werden. Der Grad der Sonnen- und Himmelsbedeckung wird folgendermaßen charakterisiert. S_0 bedeutet, daß der Ort, an welchem die Sonne am Himmel steht, nicht erkennbar ist. S_1 heißt, daß die Sonne am Himmel nur als heller Schein, S_2, daß sie als helle Scheibe zu sehen ist; S_3: Sonne nur leicht umflort, S_4 Sonne völlig unbedeckt. B_0—B_{10} entsprechen den in der Meteorologie üblichen Bezeichnungen. Es bedeutet also B_0 völlig unbedeckter Himmel. B_1, B_2. . . . . B_{10} heißt, daß der Himmel zu $^1/_{10}$, $^2/_{10}$ . . . . völlig mit Wolken bedeckt ist. Bei der Charakterisierung des Tageslichtes macht man gewöhnlich folgende Notizen, wie z. B.

Datum	*Stunde*	*Bewölkung*	*Jg*	*Jd*	*Js = Jg — Jd*
7. April 1912	10 Uhr Vorm.	S_4 B_1	0·62928	0·2796	0·3496.

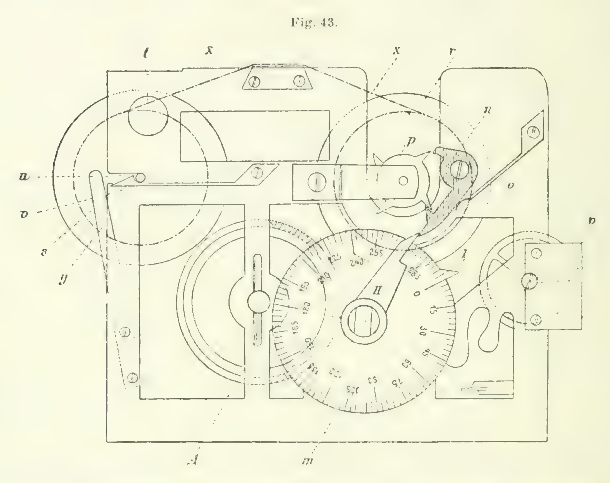
Selbstregistrierendes Photometer von Samec und Jenčić.

Für kontinuierliche Lichtmessungen kann man auch zweckmäßig das von *Samec* und *Jenčić* konstruierte selbstregistrierende Photometer[1]) benützen. In einem Holzkasten (16 × 11 × 7·2 *cm*) nach der Art der photographischen Magazinkamera befindet sich ein Laufwerk (schematische Skizze der Konstruktion in Fig. 43), welches mit Ankergang eine Achse treibt, auf welcher eine in 300 Teile geteilte Scheibe „m“ steckt. Diese trägt beim Teilstrich 0 einen 0·15 *cm* langen vorspringenden Zapfen I und einen auf der Scheibenachse beliebig verstellbaren, in einem Zapfen auslaufenden Zeiger II. Die Umlaufzeit der Scheibe beträgt zirka 5 Minuten und könnte bei Bedarf durch Beeinflussung der Unruhe „v“ variiert werden. Bei der Rotation der geteilten Scheibe wird durch den Zapfen I ein Anker „n“ ausgelöst, der durch die Feder „o“ gegen das vierzahnige Zahnrad „h“ gerückt wird. Jetzt rotiert dieses, getrieben durch eine im Gehäuse „Z“ untergebrachte Feder samt der mit ihm auf der gleichen Achse sitzenden Trommel „r“ um 90° und schiebt dabei das in der Trommel eingeklemmte lichtempfindliche Papier *(Bunsen-Eder)* um ein bestimmtes Maß fort, wo-

[1]) *M. Samec* und *A. Jenčić*, Über ein selbstregistrierendes Photometer. Sitzungsber. d. kais. Akademie d. Wiss. in Wien. Bd. **119**. 1910.

durch dieses exponiert wird. Die Expositionszeit beträgt je nach der Einstellung 3 Sekunden bis 5 Minuten. Der 7 *m* lange Papierstreifen „x“ ist auf der Rolle „s“ aufgerollt und läuft über eine Brücke, die sich im Deckel des Apparates in der Form eines Spaltes befindet. Der Papierstreifen zeigt nach der Exposition zweierlei belichtete Felder, die durch unbelichtete schmale Streifen voneinander getrennt sind. Die während der fast 5 Minuten langen Expositionszeiten freiliegenden Papierteile bekommen bei gewöhnlichen Lichtverhältnissen derartig starke Lichteindrücke, daß sie für die Verarbeitung der Messungen wertlos sind. Die kurz belichteten Felder zeigen die Eindrücke des Gesamtlichtes (Sonne und diffuses Licht) und

Fig. 43.



Die innere Konstruktion des selbstregistrierenden Photometers von *Samec* und *Jenčič*.

die des bloßen diffusen Lichtes in den von den besonderen am Rande des Deckelspaltes angebrachten Stifte erzeugten Schatten. Verwendet man das *Bunsen-Eder*-Papier, so läßt sich unter Berücksichtigung der bekannten Expositionszeit, der Papierkonstante (Intensitätsrelation) auf indirekte Weise die Intensität bestimmen.[1])

Lichtmessungen im Wasser.

Die Lichtverhältnisse im Wasser sind schon öfters auf aktinometrischem Wege sowohl quantitativ wie auch qualitativ untersucht worden und ich

[1]) Den Apparat hat der Universitätsmechaniker *L. Castagna* (Physiologisches Institut in Wien, I., Währingerstraße) gebaut.

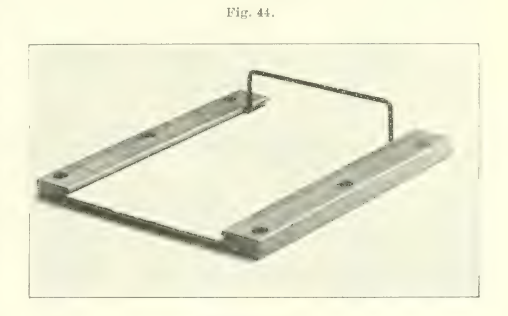
möchte hier nur auf die diesbezüglichen Arbeiten von *L. Linsbauer*[1], *O. Fr. v. Aufsess*[2], *Ewald*[3], *Helland-Hansen*[4] und *Bertel*[5] hinweisen.

Die Bestimmung der Richtung des stärksten diffusen Lichtes.

Für gewisse biologische Versuche ist es wichtig, nicht allein die Intensität, sondern auch die Richtung des stärksten diffusen Lichtes zu wissen. *Wiesner*[6] hat einen sehr einfachen Apparat konstruiert, der gestattet, aus der Lage des Schattens die Richtung des stärksten diffusen Lichtes eines bestimmten Lichtareals zu bestimmen. Dieser Apparat hat den Namen „Skioklisimeter".

Der Skioklisimeter besteht aus einer 6·5 *cm* langen, 6 *cm* breiten Metalltafel, welche oben mit einem rein- und mattweißen dünnen Karton bedeckt ist, der am Rande der Tafel der Länge nach, rechts und links, von je einem 1 *cm* breiten Metallstreifen festgehalten wird. An diesen beiden Metallstreifen befindet sich eine Millimeterteilung. Über dem Nullpunkte dieser Teilung befindet sich in einer bestimmten Höhe ein mattgeschwärzter Draht, der genau parallel zur Tafelfläche zu liegen kommt. Durch rechtwinkelige Abbiegung der beiden Drahtenden und Einfügung derselben in die Metallplatte wird die Fixierung des schattenwerfenden Drahtteiles besorgt. Der letztere ist an diesem Apparat so angebracht, daß seine Achse genau 1 *cm* über der Fläche des

Fig. 44.



Skioklisimeter.

[1] *L. Linsbauer,* Photometrische Untersuchungen über die Beleuchtungsverhältnisse im Wasser. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Bd. **114**. 1905.

[2] *O. Freih. v. Aufsess,* Eine photographische Methode zur Bestimmung des Eindringens der Wärmestrahlung in einem See. *Petermann*s Mitteil. Bd. 52. 1906 (VIII. S. 184).

[3] *W. F. Ewald,* Über eine Methode zur Messung des Lichtes im Wasser. Intern. Rev. d. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. Bd. **3**. H. 1.

[4] *Helland-Hansen,* The „Michael Sars" North Atlantic Deep Sea Expedition 1910. Geogr. Journ. for April and May 1911.

[5] *R. Bertel,* Description d'un spectrographe sous-marine pour les recherches qualitatives de la lumière à différentes profondeurs de la mer. Annales de l'institut oceanographique Monaco. T. 3. Fasc. 6. 1912.

[6] *J. v. Wiesner,* Eine Methode zur Bestimmung der Richtung und Intensität des stärksten diffusen Lichtes eines bestimmten Lichtareals. Sitzungsber. d. Wiener Akad. der Wiss. Bd. **119**. Abt. 1. 1910.

Kartons zu liegen kommt und die abgebogenen Drahtteile sind so gestellt, daß ihre Achsen in die beiden Nullpunkte der Teilung einschneiden. Bei der Ablesung der Höhe hat man die Mitte des Schattens — entsprechend der Achse des schattenwerfenden Drahtes zu wählen.

Jedem Millimeterteilstrich entspricht ein bestimmter Höhenwinkel, der sich leicht aus der Höhe des Drahtes über der Projektionsfläche und aus der Entfernung des Schattens vom Anfangspunkt der Teilung durch die Tangentenformel logarithmisch berechnen läßt. In der nachstehenden Tabelle sind einige der betreffenden Werte angegeben. Es braucht nicht weiter ausgeführt zu werden, daß man auch noch die Werte für halbe Millimeter wird zur Bestimmung heranziehen können, daß aber eine weitere Verfeinerung der Messung nicht empfehlenswert ist, da es sich doch nur um eine approximative Bestimmung handeln kann, welche aber für die oben genannten Zwecke ausreicht.

Millimeterstrich	Höhe in Graden approximativ ausgedrückt	Millimeterstrich	Höhe in Graden approximativ ausgedrückt
0	90	14	35
1	84	15	33
2	78	16	32
3	73	17	30
4	68	18	29
5	63	19	27
6	59	20	26
7	55	25	21
8	51	30	18
9	48	35	16
10	45	40	14
11	42	45	12
12	40	50	11
13	37		

Beim Gebrauch des Skioklisimeters wird der schattenwerfende Draht quer zur Lichtfläche gestellt und die Entfernung der Mittellinie des Schattens vom Nullpunkt der Millimeterteilung festgestellt. Fällt beispielsweise die Schattenmitte zwischen die Teilstriche 14 und 15, so wird die Höhe, in welcher die intensivsten Strahlen sich befinden, approximativ 34° betragen. Die Bestimmung des stärksten diffusen Lichtes ist desto sicherer, je kleiner das zu prüfende Lichtareal ist.[1]) Mittelst Skioklisimeters hat *Wiesner* den euphotometrischen Charakter der Blätter in bequemer Weise ermittelt. Man sucht den Schatten im diffusen Lichte auf, welcher die „Höhe" der stärksten diffusen Beleuchtung angibt und dreht an der Vorderkante des

[1]) Den Skioklisimeter hat Herr Universitätsmechaniker *L. Castagna* in Wien (Physiologisches Institut, IX., Währingerstraße) ausgeführt und ist bereit, denselben auf Bestellung zu liefern.

Apparates dessen Projektionsfläche, d. i. jene Fläche, welche den Schatten aufzunehmen bestimmt ist, so lange empor, bis der dreiteilige schattenwerfende Stab des Apparates mit dem Schatten in eine Ebene fällt. Die Neigung dieser Fläche steht senkrecht auf der Richtung des stärksten diffusen Lichtes. Wenn das zu prüfende Blatt euphotometrisch ist, so muß seine Lage mit jener der gesuchten Fläche übereinstimmen.

Anwendung der photographischen Methode der Lichtmessung zur Bestimmung des Lichtgenusses.

Unter dem Ausdruck „Lichtgenuß" versteht man in der Pflanzenphysiologie nach *Wiesner* jenen Anteil des Gesamtlichtes, das der Pflanze zukommt, nicht aber auch jenen, der in ihr zur Wirkung kommt, denn oft wird ein großer Teil des zugekommenen Lichtes physiologisch gar nicht verwertet. Wenn „J" die Stärke des Gesamtlichtes und „i" die Stärke des Lichtes ist, das die Pflanze an ihrem Standort erhält, so ist der Lichtgenuß

$$L = \frac{i}{J}.$$

Der relative und absolute Lichtgenuß.

Wenn man in dem Ausdruck $\frac{i}{J}$ den Wert $i = 1$ setzt, so erhält man $\frac{1}{J}$, d. i. den relativen Lichtgenuß. Dieser bezeichnet allgemein das Verhältnis der Lichtstärke, welche auf eine Pflanze einwirkt, zur Lichtstärke des Himmels.

Wenn man die Lichtstärke im absoluten Maß ausdrückt, so erhält man den absoluten Lichtgenuß.

Der relative Lichtgenuß einer bestimmten Pflanzenart ist keine unveränderliche Größe. Einige Pflanzen erhalten im Frühling einen viel größeren Lichtanteil des Gesamtlichtes als im Sommer. Das Studium des Lichtgenusses der Pflanzen durch *Wiesner* hat der Pflanzenphysiologie sehr bemerkenswerte Resultate geliefert.

Die Bestimmung des Lichtgenusses.

Um den Lichtgenuß einer Pflanze zu bestimmen, ist es notwendig, das Gesamtlicht und das Licht am Standorte der Pflanze während einer ganzen Vegetationsperiode zu beobachten und aus dem Verhältnis beider Lichtstärken den relativen Lichtgenuß zu berechnen.

Wiesner hat auch ein Verfahren angegeben, den relativen Lichtgenuß auch ohne Zuhilfenahme des Normaltones zu bestimmen.

„Ein Streifen (a) des Normalpapiers wird in horizontaler Lage der Einwirkung des gesamten Tageslichtes ausgesetzt; zu gleicher Zeit wird eben so lange ein zweiter Streifen (b) an der Pflanze oder an einer bestimmten Stelle der Pflanze (z. B innerhalb der Baumkrone) in der für

den Versuch erforderlichen Lage (z. B. an einem in fixer Lichtlage befindlichen Blatte auf der Oberfläche desselben) befestigt. Man erhält auf diese Weise zwei Streifen (a, b) von ungleicher Färbung. Da die Färbungen dieser Streifen in der gleichen Zeit erfolgten, so läßt sich hieraus das Verhältnis der Lichtstärke, welche auf den Vergleichsorten herrschte, bestimmen. Diese beiden Streifen werden unter der erforderlichen Vorsicht, also bei Ausschluß störender Lichtwirkungen, welche zu einer Veränderung der Farbentöne führen könnten, in den Insolator gebracht und ein frischer Streifen des Normalpapieres nebenher eingefügt. Nun stellt man den Insolator im diffusen Tageslichte in der Nähe eines Fensters auf und wartet, bis das frische Normalpapier die Farbe der beiden gefärbten Streifen a und b angenommen hat. Da aber diese beiden Färbungen während der im Lichte erfolgenden Bestimmung sich ändern, so schiebt man nach und nach die unter der schwarzen Hülle des Insolators befindlichen Streifen ins Licht, bis eine frisch hervorgezogene Partie der Streifen genau die Färbung, welche auf dem frischen Streifen entstanden ist, angenommen hat. Wenn 75 Sekunden verfließen, bis der frische Streifen die Farbe von *a*, und 25 Sekunden, bis er die Farbe von *b* angenommen hat, so verhält sich die Stärke des gesamten Tageslichtes zu der an der betreffenden Stelle der Pflanze herrschenden wie 75:25 = 3:1. Die Pflanze oder das betreffende Organ der Pflanze erhält also den dritten Teil der chemischen Intensität des gesamten Tageslichtes. Der relative Lichtgenuß der betreffenden Pflanze oder des betreffenden Organs ist also $^1/_3$.

Beispiele für den relativen Lichtgenuß.

Buche	$1-^1/_{85}$	Freistehender Baum
Roßkastanie . .	$1-^1/_{57}$	Geschlossener Bestand
Hainbuche . . .	$1-^1/_{56}$	" "
Eiche	$1-^1/_{26}$	" "
Götterbaum . .	$1-^1/_{22}$	Freistehender Baum
Föhre	$1-^1/_{11}$	Kleiner, nicht dichter Bestand
Birke	$1-^1/_9$	
Lerche	$1-^1/_3$	

Biochemische Methoden bei Malariauntersuchungen.

Von **G. Giemsa**, Hamburg.

Bedeutete schon das im Jahre 1880 erfolgte Auffinden des Malariaparasiten im Menschenblut durch *Laveran*[1, 2, 3]) einen epochemachenden Fortschritt auf dem Gebiete der Malariaforschung, so wurden dieser durch *Ronald Ross*[4, 5, 6, 7]) weitere lichtvolle Ausblicke eröffnet. Durch seine zuerst bei der Malaria der Vögel (siehe diese) und später bei der des Menschen gemachte Entdeckung, daß sich die allen Züchtungsversuchen trotzenden Parasiten in den weiblichen Stechmücken geschlechtlich fortpflanzen, dort ins Unermeßliche vermehren, um schließlich am Ende ihres Generationswechsels angelangt gelegentlich eines Mückenstiches in Form von Sporozoiten die Blutkörperchen von neuem zu befallen und so die Krankheit weiter zu verbreiten, wurde eine ganze Reihe bis dahin offenstehender Fragen mit einem Schlage gelöst.

Diese Erfolge kamen aber bekanntlich nicht nur der Erforschung der Malaria zugute, sondern haben auch zu der weiteren wichtigen Entdeckung geführt, daß zahlreiche andere teils pathogene, teils saprophytische Blutschmarotzer protozoischer Natur einen sehr ähnlichen Generations- und Wirtswechsel durchmachen, Feststellungen, welche für die Epidemiologie und Bekämpfung einer Reihe von Krankheiten von ungeahnter Bedeutung wurden. Aus den *Ross*schen Entdeckungen ergibt sich aber auch, daß für ein erfolgreiches Arbeiten auf diesem Gebiete die alleinige Berücksichti-

---

[1]) *A. Laveran,* Note sur un nouveau parasite trouvé dans le sang de plusieurs malades atteints de fièvre palustre. Acad. de méd. Paris. 23. Nov. 1880.

[2]) Derselbe, Communication à l'Academie des sciences sur la nature parasitaire les accidents de l'impaludisme. Compt. rend. Acad. Soc. Paris 1881. T. 93. p. 627.

[3]) Derselbe, Anopheles et Paludisme. Comptes rendus. 1903. 6. April.

[4]) *Ross,* On some peculiar pigmented cells found in two mosquitos fed on malarial blood. British med. Journ. 1897. Vol. 2. p. 1776—88.

[5]) Derselbe, Further observations on the transformation of crescents. Indian med. Gazette. Calcutta 1898. Nr. 1.

[6]) Derselbe, Report on a preliminary investigation into malaria in the Sigur Ghat Ootacamund. 1898. ibid. p. 133—136 und 170—175.

[7]) Derselbe, Report on the cultivation of Proteosoma Labbé in grey mosquitos. Calcutta 1898. p. 21. 9 Taf.

gung der im menschlichen Blute lebenden Parasiten durchaus nicht genügt, daß vielmehr auch die Entwicklung des Erregers im Organismus der Stechmücke und diese selbst eingehende Beachtung beansprucht. Es folgt aus ihnen ferner, daß auch von dem Studium einiger dem Erreger der menschlichen Malaria nahestehender Parasiten der Tiere eine wesentliche Klärung verschiedener die Menschenmalaria berührender Fragen zu erhoffen ist. Diese Gesichtspunkte sind auch für die Bearbeitung des vorliegenden Themas maßgebend gewesen.

Es versteht sich von selbst, daß von der ungeheuren Fülle von Literatur, welche seit den erwähnten Entdeckungen entstanden ist, nur derjenige Teil Berücksichtigung finden konnte, welcher besonderes biochemisches Interesse beansprucht. Im übrigen mußte auf die Sammelwerke verwiesen werden.

Züchtung der Malariaüberträger (Anophelesmücken).

Zum Gelingen der experimentellen Malariaübertragung durch Anophelinen (gewöhnlich wird Anopheles maculipennis hierzu benutzt) ist eine genaue Kenntnis und Berücksichtigung der Lebensgewohnheiten dieser Dipteren unerläßlich.

Die bequemste Fangzeit ist in unseren Breitegraden der Winter, in welchem sich die Tiere vorzugsweise in halbdunkeln Räumen, wie Kellern, Ställen u. dgl. aufhalten, dort in einem Zustand verminderter Lebensenergie bis zum beginnenden Frühjahr regungslos verharren und sich mühelos einfangen lassen. Im Sommer, in dem sich die Anophelen gleichfalls mit Vorliebe in Wohnungen und Tierställen aufhalten, wird man ihrer am besten in den helleren Tagesstunden, ihrer Ruhezeit, habhaft (*Mühlens*[1]).

Man fängt sie am bequemsten mit Hilfe der *Noch*tschen Mückenfanggläser (siehe *Ruge*[2]), die man über die sitzenden Mücken stülpt. Sie dienen auch zum vorläufigen Ansammeln und zum Transport der Mücken. Kätscher sind nach *Grassi*[3]) zum Einfangen ungeeignet, weil man mit ihnen die Insekten leicht verletzt. Die gefüllten Gläser entleert man in einen vor direkten Sonnenstrahlen zu schützenden, viereckigen, mit engmaschiger Gaze überspannten Käfig, der mindestens eine Grundfläche von 50 × 50 *cm* besitzen soll. Auf seinem Boden sind einige mit Wasser gefüllte Uhrschalen unterzubringen, welche den Tieren zur Eiablage dienen. Eine Seitenwand kann zur besseren Beobachtung der Mücken aus Glas gefertigt sein, eine zweite muß eine Vorrichtung besitzen,

[1]) *Mühlens*, Jahresbericht über die Malariabekämpfung in Wilhelmshaven und Umgebung. Klin. Jahrb. 1911. Jena.

[2]) *Ruge*, Malariaparasiten. 2. Aufl. d. Handb. d. path. Mikroorganismen. Herausg. von *Kolle* und *Wassermann*. 1912.

[3]) *B. Grassi*, Die Malaria. Studien eines Zoologen. Jena 1901. G. Fischer. Monographie.

welche gestattet, Gegenstände in den Käfig hineinzubringen, ohne daß die Mücken hierbei entweichen. Dies wird am besten durch eine Öffnung in der Wand erreicht, an welcher ein ärmelartiger Gazeansatz angebracht ist. Bei Nichtbenutzung wird dieser mit Hilfe eines Bindfadens zusammengeschnürt.

Man ernährt die Anophelinen mit verdünnten Fruchtsirupen, Honiglösung u. dgl., die man auf entfettete Mulläppchen träufelt, oder mit süßen Früchten. Für das Weiterzüchten (Eiablage) ist es indessen erforderlich, die Weibchen Blut — nach *Mühlens* (l. c.) am besten Menschenblut — saugen zu lassen. Zu diesem Zwecke steckt man irgend einen kleinen Warmblüter (Kanarienvogel, Maus, Ratte u. dgl.) oder den entblößten Arm eine Zeit lang in den Käfig hinein. Um zu verhindern, daß sich die Tiere der Mücken erwehren, bringt man sie vorher in möglichst kleinen Drahtbehältern unter, so daß sie ihrer Bewegungsfreiheit beraubt sind.

Die Eier — jedes Weibchen legt 100—150 Stück — führt man in Glasschälchen über und überläßt sie dort der Weiterentwicklung unter möglichst täglicher Erneuerung des Wassers. Die ausgeschlüpften Larven gedeihen am besten in besonderen, zu $^2/_3$ mit Wasser gefüllten und mit grünen Wasserpflanzen versorgten Glasschalen, die etwa 10 bis 15 *cm* breit und 4—5 *cm* tief sind (*Schaudinn*.[1]) Man stellt sie in einen zweiten Mückenkäfig, um später die aus den Nymphen ausschlüpfenden Mücken dort anzusammeln. Das Wasser, in denen sich die Eier und Larven entwickeln sollen, und die Wasserpflanzen entnimmt man am besten Tümpeln oder Gräben, in denen Anophelesbrut vorzukommen pflegt. Überhaupt sind die biologischen Verhältnisse, unter denen sich die Entwicklung in der Natur abspielt, bei der künstlichen Aufzucht nach Möglichkeit nachzuahmen, wenn man auf positive Resultate rechnen will (*Mühlens* l. c.).

Die Anopheleslarven werden, da sie im Gegensatz zu den mehr vegetarisch lebenden Larven der Culexmücken vorzugsweise Carnivoren sind (*Schaudinn* l. c.), mit Daphniden oder Culexbrut ernährt, die man zerhackt und in geringen Mengen auf die Oberfläche der Larvenbehälter streut.

Etwa 3—4 Tage nach dem Ablegen der Eier darf man das Ausschlüpfen der Larven erwarten, nach weiteren 20—22 Tagen die Umwandlung in das Nymphenstadium und etwa 3 Tage später das Ausschlüpfen der fertigen Mücken. Der ganze Entwicklungszyklus vom Ei bis zum geflügelten Insekt nimmt 25—27 Tage in Anspruch bei einer Temperatur von 25—28°, bei tieferer Temperatur kann die Entwicklung länger dauern, bei höheren Wärmegraden dagegen früher beendet sein (*Grassi*). Ausführliches über die Methodik des Einfangens und der Aufzucht der Anophelinen, über die verschiedenen Spezies dieser Gattung, über Unter-

[1]) *Schaudinn*, Studien über krankheitserregende Protozoen. II. Plasmodium vivax (*Grassi* et *Feletti*) der Erreger des Tertianfiebers des Menschen. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. 1902. Bd. **19**. H. 2. S. 169—250.

scheidung von den Culicinen u. a. m. siehe in den umfassenden, auch über Einzelliteratur Auskunft gebenden Werken von *Grassi* (l. c.), *Schaudinn*[1] (u. l. c.), *Celli*[2], *Ruge*[3] (u. l. c.), *Eysell*[4].

Der Nachweis der Parasiten

erfolgt mit Hilfe des Mikroskopes im gefärbten Trockenpräparat. sollen jedoch die Lebensäußerungen der Parasiten und seine Beeinflussung durch chemo- oder serotherapeutische Mittel genauer verfolgt werden. so ist auch die Beobachtung des lebenden ungefärbten Objektes notwendig.

Gemäß dem Entwicklungsgange des Malariaerregers, der sich auf ungeschlechtlichem[5] Wege (durch Schizogonie) im Blute des Zwischenwirtes (Mensch) und auf geschlechtlichem (durch Sporogonie) im Organismus des Wirtes (Anopheles) vollzieht, ist der Nachweis im Menschen wie in der Mücke von Wichtigkeit.

a) Untersuchung des lebenden Objektes.

Um Blutpräparate herzustellen. verfährt man nach *Schaudinn* (l. c. S. 195) folgendermaßen: Nachdem man einen heizbaren Objekttisch (nach *Pfeiffer*) auf 38—39° gebracht und eine feuchte Kammer (nach *F. E. Schulze*) in einem auf etwas über 37° eingestellten Thermostaten erwärmt hat. wird in eine für die Blutentnahme besonders geeignete, gut gereinigte Stelle. wie z. B. Fingerbeere. Ohrläppchen. eine ziemlich tiefe Inzision mittelst eines Lanzettschneppers (*Franke*scher Nadel) oder einer Impffeder (*Heintze & Blanckertz*, Berlin) gemacht, so daß sofort ein großer Blutstropfen austritt. Der erste wird abgetupft, der zweite mit einem vorgewärmten runden Glasstab. den man kurze Zeit über den Tropfen zieht, aufgefangen und man bestreicht sofort mit der benetzten Seite des Stabes ein gleichfalls vorgewärmtes Deckglas. Dieses wird so schnell wie möglich mit dem leeren. welches die feuchte Kammer verschloß, ausgewechselt, mit Vaselin umrandet. das Präparat auf den erwärmten Objekttisch gebracht und mit der Ölimmersion untersucht.

[1] *F. Schaudinn,* Der Generationswechsel der Coccidien und Hämosporidien. Zool. Zentralbl. 1899. Bd. 6. Nr. 22. S. 765—783.

[2] *A. Celli,* Die Malaria nach den neuesten Forschungen. Übersetzt von *Kerschbaumer.* 1900. Wien. Urban & Schwarzenberg. (Monogr.)

[3] *R. Ruge,* Einführung in das Studium der Malariakrankheiten. 1901. Jena. (Monographie.)

[4] *Eysell,* „Die Stechmücken" in Handbuch der Tropenkrankheiten, herausg. v. *C. Mense.* Leipzig. J. A. Barth. 1905. Bd. 2. S. 44.

[5] *Rowly-Lawson* (*Mary Rewley-Lawson,* The aestivo-autumnal parasite: its sexual cycle in the circulating blood of man with a description etc. Journ. f. exp. Med. 1911. Vol. 13. Nr. 2. Mit 11 Taf.) glaubt festgestellt zu haben, daß sich die vollständige geschlechtliche Entwicklung des Tropikaparasiten im menschlichen Blute abspielt und daß der runde Makrogamet erst nach der Befruchtung zum Halbmond wird, welcher dann zur Sporulation schreitet. Bis heute steht die Forscherin mit ihren Ansichten allein da.

Ganz ähnlich wie das menschliche Blut werden die aus bestimmten Organen der Mücken gewonnenen Körpersäfte usw. auf Parasiten untersucht, nachdem sie mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit der aus dem Abdomen kurz vorher präparierter Anophelen herausgepreßten Körperflüssigkeit *(Schaudinn)* vermischt worden sind.

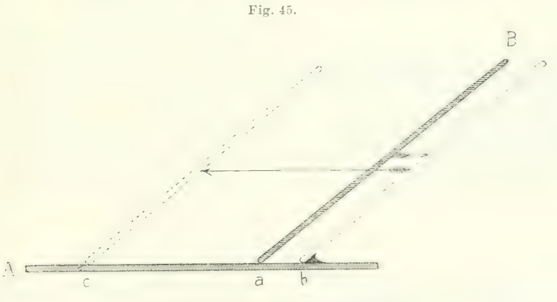
Als Sitz der Parasiten in der Stechmücke kommt der erweiterte Mitteldarm (Magen), die innere und äußere Wand desselben und die Speicheldrüsen in Betracht, nur selten findet man die Sporozoiten im Lacunom.

Bezüglich der Präparation dieser Organe, welche eine genaue anatomische Kenntnis des Mückenorganismus erfordert, sei auf die fachwissenschaftlichen Spezialwerke, insbesondere auf die von *Grassi* (l. c.), *Ruge* (l. c.), *Christophers*[1]), *Schaudinn* (l. c.) verwiesen.

b) Untersuchung im gefärbten Trockenausstrich.

Blutausstriche werden am besten auf Objektträgern, nicht auf Deckgläschen, gemacht. Einen „kleinen", frisch aus dem Einschnitt (siehe vorher) hervorquellenden Tropfen bringt man durch Berührung mit einem fettfreien Objektträger *A* (Fig. 45) etwa auf dessen Stelle *b* und führt die

Fig. 45.



Herstellung des Blut-Trockenausstriches.

schmale Kante eines zweiten „geschliffenen" Objektträgers *B* etwa von der Stelle *a* aus soweit an den Tropfen heran, bis dieser adhäriert und sich ziemlich über die ganze Kante hin verteilt. Darauf läßt man den Objektträger *B* in der auf der Figur gekennzeichneten schrägen Stellung etwa bis *c* gleiten, wobei sich das Blut in sehr gleichmäßiger dünner Schicht und ohne daß Blutkörperchen und Parasiten gequetscht werden, auf der ganzen Fläche des unteren Objektträgers ausbreitet. Ein schnelles Eintrocknen des Ausstriches, welches man durch Hin- und Herschwenken des

---

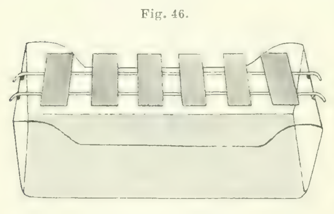
[1]) *S. R. Christophers,* The anatomy and histology of the adult female mosquito. Reports to the malaria Comm. of the Roy. Soc. London 1901.

Objektträgers leicht erreicht, trägt wesentlich zum Erzielen guter Präparate bei. In solchen müssen die Blutkörperchen zum größten Teil einzeln nebeneinander liegen und dürfen keine auffallenden Schrumpfungs- und Verzerrungserscheinungen (Stechapfelformen u. dgl.) zeigen.

Die gut lufttrockenen Präparate werden vor der Färbung in absolutem Alkohol oder anderen Mitteln gehärtet, sofern die zu benutzende Farblösung nicht selbst fixierend wirkt.

Die Färbung kann nach verschiedensten Methoden erfolgen. Die älteste ist die Borax-Methylenblaumethode nach *Manson*. Sehr kontrastreiche und daher diagnostisch wie morphologisch besonders gut verwertbare Bilder liefert die sogenannte Romanowskyfärbung.[1]) Bei dieser treten zwei amphochrome polychromatische Farbsalze (Methylenblau-Eosin und Methylenazur-Eosin) in Wirkung, durch welche die acido-, baso- und neutrophilen Parasiten- und Blutelemente in verschiedenen Nuancen angefärbt werden. Bei gelungener Färbung erscheinen die Kerne leuchtend rotviolett, das Plasma blau, andere Zellbestandteile in Mischfarben von blau und rot mit oft sehr distinkter Abtönung, stark acidophile Einschlüsse eosinfarben. Die in ihrer ursprünglichen Form von *Romanowsky* angegebene Farbmischung gab sehr unsichere Resultate und ist später von verschiedenen Autoren, insbesondere von *Nocht*, *Ziemann*, *Leishman*, *L. Michaelis*, *Giemsa* verbessert worden.

Fig. 46.



Färbetrog nach *M. Mayer*.

Nach der jetzt am meisten angewendeten Modifikation von *Giemsa* gestaltet sich der Fixierungs- und Färbeakt folgendermaßen.

Nötige Farbstammlösung [2]): Methylenazur (II)-Eosin 3·0 *g*, Methylenazur (II) 0·8 *g*, Glyzerin (*Merck*, chemisch rein) 125·0 *g*, Methylalkohol (*Kahlbaum* I) 375·0 *g*.

1. Härtung der lufttrockenen Ausstriche in absolutem Alkohol 30 Minuten und länger, oder schneller (2—3 Minuten) in absolutem Methylalkohol oder absolutem Alkohol + Äther zu gleichen Teilen. 2. Abtupfen mit Fließpapier. 3. Bereitlegen der Präparate — am besten im Färbetrog nach *M. Mayer* [3]) — (Schichtseite nach oben). 4. In einem graduierten Meßzylinder von mindestens $2^1/_2$ *cm* Durchmesser zu 10 cm^3 neutralem oder (besser) sehr schwach alkalisiertem destillierten Wasser (1—3 Tropfen einer 1⁰/₀₀igen

[1]) *Romanowsky*, Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria. Deutsch von *P. Werner*. St. Petersburg 1891.

[2]) Vorrätig bei Dr. *Grüblers* chemisch-bakteriologischem Laboratorium (Inhaber Dr. *K. Hollborn*), Leipzig. Methylenazur (II)-Eosin = Gemisch aus gleichen Teilen Methylenazur- und Methylenblau-Eosin. Methylenazur (II) = Gemisch aus gleichen Teilen Methylenazur und Methylenblau.

[3]) Bei *F. & M. Lautenschläger*, Berlin N. zu haben.

Natriumkarbonatlösung auf 10 cm^3 Wasser) 10 Tropfen Farbstammlösung unter gelindem Umherschwenken hinzusetzen und diese Mischung „unverzüglich" auf die Objektträger heraufgießen, bis die Schicht ganz vom Farbgemisch bedeckt ist. 5. Farblösung mindestens 15—30 Minuten oder beliebig länger einwirken lassen. 6. Ganz kurzes Abwaschen der Präparate mit sehr dünnem aber scharfem Strahl der Wasserleitung, abtupfen mit Fließpapier, lufttrocken werden lassen und in Zedernöl oder flüssiges Paraffin einbetten.

Über Schnellfärbemethoden, das sogenannte Dicktropfenverfahren mit Hilfe der erwähnten Farbstammlösung, über Mansonfärbung usw. siehe bei *Giemsa.*[1])

c) Vitalfärbung.

Vitalfärbungen sind von *Schaudinn* (l. c.) und *v. Prowazek* mit Methylenblau und Neutralrot ausgeführt worden. Da die Kerne des lebenden Parasiten das Methylenblau zum Leukofarbstoff reduzieren und sich erst nach dem Absterben infolge Reoxydation des Farbstoffes blau färben, kann die Anwendung von Methylenblau bei der Feststellung des erfolgten Todes der Parasiten wertvolle Dienste leisten.

Verhalten von Malariablut beim Zentrifugieren.

Sereni[2]) erzielte beim Zentrifugieren mit Malariablut ein Anreichern der parasitenhaltigen Erythrozyten in bestimmten Schichten des Zentrifugates. Er machte die Beobachtung, daß Blutkörperchen, welche Malariaplasmodien, gleichgültig welcher Art und welchen Alters enthalten, spezifisch schwerer, und nur die von Tropikagameten befallenen leichter sind als normale. Durch Zentrifugieren lassen sich daher erstere am reichlichsten in der äußersten, die Tropikahalbmonde in der dem Serum zunächst folgenden Schicht auffinden, eine Methode, die bei sehr spärlich vorhandenen Parasiten diagnostisch gut verwertbar erscheint.

Erkennen latenter Malaria.

Sehr schwierig gestaltet sich bisweilen das Feststellen einer Malaria, bei welcher Parasiten im peripheren Blute nicht gefunden werden, dagegen in den inneren Organen zu vermuten sind, wie dies z. B. nach ungenügender Therapie häufig der Fall ist. *Ziemann* (l. c.) zieht hierfür folgende Beweismöglichkeiten in Betracht.

a) Punktion der Milz, in welcher bei latenter Malaria Parasiten in der Regel zu erwarten sind (gefährlich, namentlich bei sogenannten Blutern).

b) Vorhandensein „pigmentierter" mononukleärer Leukozyten (welche für latente Malaria sprechen sollen), eventuell unter Hinzuziehung des Mikro-Polarisationsapparates (siehe bei Pigment).

---

[1]) *Giemsa,* Fixierung und Färbung der Protozoen. Aus Handbuch der pathog. Protozoen, herausg. von *S. v. Prowazek.* Leipzig 1911. Bd. 1 (zugleich enthaltend Hinweis auf frühere Arbeiten über die Romanowsky-Färbung.)

[2]) *Sereni,* Nachweis der Malariaplasmodien. Il Policlinico. 1908. Vol. 14. H. 10.

c) Verschiebung des Leukozytenverhältnisses: Vermehrung der großen mononukleären Formen, welche normalerweise 5—10%, bei Malaria 15-20—40% aller Leukozyten ausmachen können.

d) Das angebliche Agglutinationsvermögen des Malariablutes hat sich als unzuverlässig erwiesen.

e) Die Agglutination der Malaria-Sporozoiten:

Nach *Christophers* und *Stephens* wird eine Agglutination der aus den Giftdrüsen des Anopheles stammenden Malariasporozoiten noch nach dem Zusatz von Serum eines Malarikers in der Verdünnung von 1:15 hervorgerufen, während Normalserum nur bis zu einer solchen von 1:5 agglutinierend wirkt.

f) Auftreten von spezifischen Präzipitinen oder Koagulinen. (Versuche verliefen bis jetzt ergebnislos.)

g) Vorhandensein basophiler Körnung (körnige Degeneration) und starker Polychromatophilie (Karychromatophilie) lenken in Malariagegenden bei Personen, welche schon an Malaria litten bzw. bis dahin angeblich gesund waren, den Verdacht auf diese Krankheit.

A. Plehn[1]) erblickte bei Malariaverdächtigen ohne Parasitenbefund unter anderem in dem vermehrten Auftreten von Urobilin im Harn den Hinweis auf eine bestehende latente Malaria.

Urriola[2]) gibt an, daß es ihm in Fällen larvierter Malaria stets gelungen sei, weniger im Serum als im zentrifugierten Urin Malariapigment nachzuweisen, das zur Diagnose führte. *Mars*[3]) hingegen kommt auf Grund von Nachprüfung zu dem Schluß, daß die Befunde *Urriolas* wertlos seien.

Vielleicht ist die neue „optische" Methode von *Abderhalden*[4, 5]) mit ihrer vielseitigen Verwendungsmöglichkeit dazu berufen, dem Kliniker in diesen wichtigen Fragen dereinst eine klarere Antwort zu geben. Auf ihre Bedeutung bei gewissen Fragestellungen aus dem Gebiete der durch Protozoen hervorgerufenen Krankheiten hat ja *Abderhalden* bereits selbst hingewiesen.

Abbildungen 47 und 48 zeigen die Form der ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Parasiten der Tertiana (Plasmodium vivax, *Grassi* und *Feletti*) und der Tropika (Pl. immaculatum, *Grassi* und *Feletti*). Von der Wiedergabe des Quartanaparasiten (Pl. malariae, *Laveran*), welcher sich sehr dem Tertianatyp nähert, wurde Abstand genommen.

[1]) *A. Plehn*, Diagnose der latenten Malaria. Münchener med. Wochenschr. 1909. Nr. 34.

[2]) *Urriola*, Sur un nouveau signe pathognomique du paludisme. Sem. méd. 1911. 4. Jan. Mit 5 Fig.

[3]) *Mars*, Sopra uno preteso segno patognomico della infezione malarica. Policlinico sez. prat. fasc. Vol. 16. 16. April 1911.

[4]) *E. Abderhalden*, Schutzfermente des tierischen Organismus. Berlin. Springer, 1912.

[5]) Derselbe, Die optische Methode und ihre Verwendung für biologische Fragestellungen. Dieses Handb. V. 1. S. 575.

Das Übertragen der Malaria auf den Menschen

kann erfolgen:

a) durch direktes Überimpfen von infiziertem „schizontenhaltigen" Blut auf den gesunden Menschen. Der Ausbruch manifester Malaria mit Fieber und Parasitenbefund darf nach einer auf subkutanem Wege erfolgten Infektion durchschnittlich erwartet werden bei der Tropika in 6·5, bei Tertiana in 11, bei Quartana in 13·4 Tagen. Eine weit kürzere Inkubationszeit (33 Stunden) beobachtete *Eltling* bei einer intravenösen Einspritzung von 3 *cm*³ infiziertem Blut. Ausführliches hierüber siehe bei *Mannaberg*[1]), *Eltling*[2]) und *Mattei*[3]).

Blut mit Malariaparasiten.[4])

Fig. 47.

a) Malaria tertiana.
a Kleiner Lymphozyt, *b* eosinophiler Leukozyt, *c* mittelgroßer Malariaring, *d* halberwachsener Parasit, Tüpfelung seiner Wirtszelle, *e* ♂ Tertianparasit (Gametozyt), noch nicht ganz erwachsen, *f* Teilungsform des Tertianparasiten, *g* ♀ Parasit (Gamet), *h* zerrissene (Chinin-) Form eines Parasiten, *i* Rückbildung eines ♀ Gameten zum Schizonten.

Fig. 48.

b) Malaria tropica.
a Großer mononukleärer Leukozyt, *b* Blutplättchen, *c* kernhaltiges rotes Blutkörperchen (Normoblast), *d* kleiner, *e* mittlerer, *f* großer Tropikaring, *g* Doppelinfektion eines Blutkörperchens, *h* Tropikaring mit zwei Kernen, *i* lang gezogener Tropikaring, *k* Teilungsform, *l* ♀, *m* ♂ Gamet (sog. Halbmonde).

b) auf dem gewöhnlichen Wege durch den Stich infizierter Anophelinen, wobei anscheinend die meisten Arten dieser Gattung in

---

[1]) *J. Mannaberg,* Die Malariaparasiten. 1893. Wien. Alfred Hölder. (Monographie.)

[2]) *Eltling,* Über Malaria nach experimentellen Impfungen. Zeitschr. f. klin. Med. 1899. H. 5 u. 6.

[3]) *Mattei,* Beitrag zum Studium der experimentellen malarischen Infektion am Menschen und an Tieren. Arch. f. Hyg. 1899. H. 3. S. 191.

[4]) Beide Abbildungen sind unter Zugrundelegung zweier Romanowsky-Bilder aus *Nochts* „Vorlesungen für Schiffsärzte", Leipzig 1906, angefertigt.

Betracht kommen. Die Inkubationszeit, vom Stich der Mücke bis zum Ausbruch des Malariafiebers an gerechnet, beträgt in der Regel 10—14 Tage, soll aber in Fällen schwerster Infektion auch erheblich kürzer (3 bis 4 Tage) sein.

Das Übertragen der Malaria auf die Anophelesmücken.

Ein erfolgreicher, d. h. mit allen Phasen der nachträglichen Sporogonie verbundenes Infizieren gelingt bei selbstgezogenen Mücken am besten, wenn diese vor und nach dem Saugen des Malariablutes mehrmals Normalblut zu sich genommen haben. Die Infektion erfolgt dadurch, daß man die Mückenweibchen — die Männchen stechen nicht — zu geeigneter Zeit (siehe *Schaudinn*) Blut von Parasitenträgern saugen läßt. Nach *Eysell* (l. c.) wird die ausgehungerte Mücke am einfachsten in ein weites Reagenzglas eingeschlossen, in diesem auf eine passende Hautstelle des Kranken gebracht und hier eine Zeit lang ruhig sitzen gelassen, oder man läßt den Patienten den entblößten Arm in den Mückenkäfig hineinhalten, bis Stiche erfolgt sind. Die Tiere, die gesogen haben, sind an dem stark aufgetriebenen, rot durchschimmernden Leibe leicht kenntlich. Man fängt sie heraus, hält sie isoliert in einem Käfig bei 25—30° und ernährt sie mit Blut (Eiablage) und Früchten. Da die Parasiten in der Regel nicht in allen Anophelen, welche infiziertes Blut gesogen haben, zur Weiterentwicklung gelangen, nehmen *Grassi* (l. c.) und *Schaudinn* (l. c.) an, daß es Anophelen gibt, welche von Natur aus immun gegen die Malariainfektionen sind.

Die Befruchtung der Makrogameten durch die Mikrogametozyten (siehe Fig. 49) erfolgt in der Mücke bei der Tertiana nach den Beobachtungen von *Schaudinn* 20 Minuten bis 1 Stunde nach dem Stich. Etwa 10 Minuten nach der Befruchtung läßt sich die Bildung der Ookineten beobachten. 5 bis 8 Stunden nach dem Stich hat die Verschmelzung der anfangs getrennt gelagerten ♂ und ♀ Ookinetenkerne stattgefunden. Vor Ablauf weiterer 27—32 Stunden gelingt es schon, einzelne Ookineten (Würmchen) in der Tunica elastico-muscularis *(Grassi)* des Mückenmagens zu entdecken, in welcher sich dann die in Zysten eingebetteten Sporozoiten ausbilden, wobei jeder Ookinet über 10.000 Sporozoiten erzeugen kann. Das Austreten der reifen Sporozoiten aus der Zyste und ihr sich bald daran anschließendes Einwandern in die Speicheldrüse der Mücke darf man 7—8 Tage später erwarten. Diese zeitlichen Verhältnisse treffen im allgemeinen für alle drei Malariaarten zu. Auch morphologisch zeigen die Ookineten und Sporozoiten der drei Arten keine besonderen sinnfälligen Unterschiede.

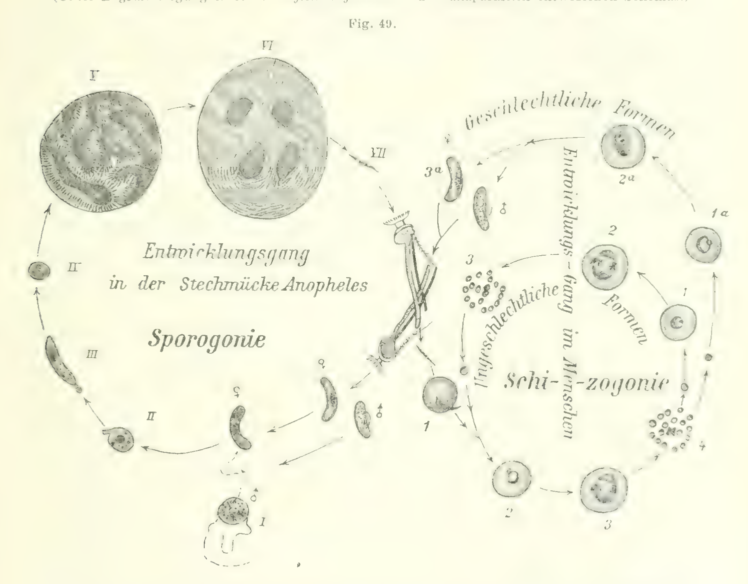
Unter den Bedingungen, die zum normalen Ablauf der Sporogonie der Malariaparasiten im Körper der Mücken erforderlich sind, haben die Temperaturverhältnisse besondere Beachtung und Bedeutung erlangt. Es zeigte sich, daß jede Erhöhung oder Erniedrigung der Temperatur über bzw. unter ein bei 25—30° liegendes Optimum die Entwicklung verlangsamt.

Länger dauernde Abkühlung auf ca. 16—14° und darunter verhindert die Sporogonie vollständig, und wenn diese Abkühlung erst nachträglich einsetzt, nachdem die Sporogonie bei günstiger Temperatur bereits begonnen hat, ist die Hemmung keine absolute, es können vielmehr einzelne Sporonten ihre Entwicklung zum normalen Abschluß bringen, während allerdings auch in diesem Falle gleichzeitig andere Sporonten degenerieren (*Lühe*[1]).

Der Entwicklungszyklus des Tropikaparasiten im menschlichen Blute und im Anopheles.

(Unter Zugrundelegung eines von *Eysell-Ruge* für den Tertianaparasiten entworfenen Schemas.)

Fig. 49.



1—3 bzw. *4* Entwicklungsgang der ungeschlechtlichen, *1a—3a* der geschlechtlichen Formen im Menschen. *I—III* Entwicklung des Parasiten im Mückenmagen (*I* Kopulation, *II* u. *III* Heranwachsen des Ookineten). *IV—VI* Entwicklung der Oozysten an der Magenwand der Mücke (*IV* kleinste Form der Oozysten, *V* fertige Sporoblasten [Tochterzysten], *VI* Zyste mit Sichelkeimen). *VII* Einzelner Sichelkeim aus einer Speicheldrüse. (Das Eindringen eines durch den Anopheles eingeimpften Sickelkeimes in ein Blutkörperchen [*1* links] und seine Umwandlung in einen Schizonten ist bis jetzt nur beim Tertianparasiten [*Schaudinn*] beobachtet worden.)

Besonderes Interesse hat die Frage gefunden, welche physiologische Reize die Reifung und Befruchtung der Geschlechtsindividuen bei den Malariaparasiten und verwandten Blutschmarotzern hervorrufen. Daß hierfür besondere Reize erforderlich sind, geht ja schon aus der Tatsache

[1]) *Lühe,* Die im Blute schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten in *Menses* Handb. d. Tropenkrankh. 1906. Bd. 3.

hervor, daß die genannten Vorgänge sich nicht abspielen, so lange die Parasiten in der Blutbahn des Menschen verbleiben, während sie doch nach dem Verlassen dieser Blutbahn unter gewissen Umständen innerhalb weniger Sekunden eintreten. Bei den Versuchen, eine Erklärung hierfür zu finden, hat sich gezeigt, daß Veränderungen der Temperatur, vor allem aber Veränderungen der Dichtigkeit des Blutes reizauslösend wirken können (siehe *Lühe* l. c., wo auch Ausführliches über die Versuchsanordnung angegeben ist).

Chemotherapeutische Methoden bei Malaria.

Während uns für chemotherapeutische Forschungen bei verschiedenen durch pathogene Protozoen hervorgerufenen Krankheitsgruppen (Spirochätosen, Trypanosomiasen) das überaus wertvolle und bequeme Tierexperiment zur Verfügung steht, sind wir bei der Malaria in der Hauptsache auf Versuche am Menschen angewiesen. Wir kennen zwar eine Malaria der Affen und der Vögel, deren Erreger mit denen der menschlichen Malaria morphologisch und entwicklungsgeschichtlich weitgehende Analogien zeigen, dagegen ist die Beeinflussung der Parasiten durch Chemotherapeutika bisweilen recht verschieden, so daß sich die Erfahrungen beim Tierexperiment nicht ohne weiteres auf die menschliche Malaria übertragen lassen.

Zum Studium der Einwirkung eines Mittels auf Malariaparasiten eignet sich — sofern es in Wasser, bzw. physiologischer Kochsalzlösung annähernd neutral löslich ist und mit Blut keine Niederschläge gibt — die intravenöse Applikation am besten. Einmal wirkt sie am schnellsten, weil bei ihr die gesamte Menge des eingeflößten Körpers auf einmal zur Wirkung kommt, ferner erlaubt sie ein sehr genaues quantitatives Arbeiten und leistet aus diesem Grunde besonders dann vorzügliche Dienste, wenn es sich darum handelt, zu vergleichbaren Werten hinsichtlich der Wirkungsintensität verschiedener Mittel zu gelangen.

Um z. B. die Wirkungsweise des Chinins auf die Parasiten zu beobachten, spritzt man einem Malariakranken eine sterile Lösung von Chininchlorhydrat in physiologischer Kochsalzlösung (1 *g* : 200 *cm*³ pro erwachsene Person) mit Hilfe der *Schreiber*schen Spritze in die Armvene. Die Schädigung der Plasmodien, die besonders von *Schaudinn* sehr genau beschrieben worden ist, läßt sich mikroskopisch nachweisen. Besonders sinnfällig ist die Wirkung auf die jungen Schizonten, deren ringförmiges Protoplasma sich ebenso wie der Kern allmählich lockert und ganz zerrissene Formen annimmt. Von den Gameten werden nur die jungen Stadien, die älteren dagegen meist erst nach mehrtägiger (Tertiana) bis wochenlanger (Tropika) Behandlung geschädigt bzw. vernichtet. Besonders bemerkenswert ist, daß die erste Einwirkung des Alkaloides fast regelmäßig mit einer vermehrten Bildung von Gameten beantwortet wird, jener widerstandsfähigen Formen, welchen die Rolle zufällt, die Erhaltung des bedrohten Parasitengeschlechtes zu sichern, sei es, daß ihnen durch einen Mückenstich Gelegenheit geboten

wird, auf geschlechtlichem Wege im Wirtstiere neue Generationen zu erzeugen oder — was z. B. nach zu frühzeitigem Einstellen der Medikation eintreten kann — sich im menschlichen Organismus zu vermehren, und zwar durch Parthenogenese der Gameten und Rückbildung derselben in Schizonten (*Schaudinn* l. c.).

Bei der in der Praxis meist geübten oralen Verabreichung kann man beim Erwachsenen im allgemeinen bei 6—8tägigen Gaben von 1 *g* Chininchlorhydrat pro die und einer 2—3monatlichen Nachkur auf ein völliges Verschwinden von Schizonten und Gameten rechnen (Ausnahmen hiervon siehe unter „Versuche über Arzneifestigkeit“). Die Nachkur pflegt so eingerichtet zu werden, daß immer zwischen zwei aufeinanderfolgende Chinintage ein-, zwei-, drei- usw. tägige Pausen eingeschoben werden. Hierbei kann die Tagesdosis auf einmal oder noch besser fraktioniert (*Nocht*[1]) verabreicht werden.

Die stärkste Einwirkung auf Malariaparasiten im menschlichen Organismus übt das Chinin bzw. einige seiner näheren Verwandten aus. Unter diesen beanspruchen besonderes Interesse die von *Grimaux*[2]) und *Arnaud* durch Alkylierung des Cupreins synthetisierten höheren Homologen des Chinins, das Chinäthylin, Chinpropylin usw., welche nach den Angaben der Autoren in weit kleineren Dosen malarizid wirken als das Chinin, der Methylester des Cupreins.

CH_2 —— CH —— $CH . CH = CH_2$

CH_2

CH_2

CH —— N —— CH_2

$CH . OH$

Chinäthylin ←— (C_2H_5O)
Chinin ←—— (CH_3O)
Cuprein ←—— HO

N

Cuprein, Chinin, Chinäthylin.

Unter den natürlichen, neben dem Chinin in den Chinarinden vorkommenden Alkaloiden verdient das Chinidin (Conchinin), das rechtsdrehende Stereoisomere des Chinins besonders hervorgehoben zu werden, desgleichen das Hydrochinin, zwei Begleiter, welche schon vor Jahren

[1]) *Nocht,* Über Chinintherapie bei Malaria. Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. 1906. Bd. **10**. Nr. 1.

[2]) *Grimaux* et *Arnaud,* Comptes rend. des séanc. de l'ac. de science. T. **112**. p. 766, 1364; T. **114**. p. 548, 672; T. **118**. p. 1803.

als dem Chinin an antipyretischer Kraft ebenbürtig erkannt worden waren. ohne daß die Befunde. welche für das Chinidin zuerst von *Macchiavelli*[1]. für das Hydrochinin von *Burkart, Kerner* und *Weller* (siehe *Hesse*[2]) erhoben wurden. die ihnen gebührende Beachtung fanden. Durch neue. von *Giemsa* und *Werner*[3]) vorgenommene Untersuchungen konnte nunmehr in einwandfreier Weise festgestellt werden, daß das Chinidin in bezug auf antimalarische Wirkung dem Chinin tatsächlich zum mindesten gleicht. während das Hydrochinin letzterem hierin sogar nicht unerheblich überlegen ist. Während vom Chininchlorhydrat zur vorläufigen Vertreibung der ungeschlechtlichen Parasiten aus der Blutbahn und zur Entfieberung eine einmalige intravenöse Injektion von 1 *g* nötig war, genügte hierzu vom entsprechenden Hydrochininsalz 0·75 *g*. Da nach den übereinstimmenden Befunden verschiedener Autoren die Dosis tolerata für Hydrochinin und Chinin gleich ist. kann man somit mit jenem einen kräftigeren Ictus therapeuticus ausüben als mit diesem, ja es dürfte mit Rücksicht hierauf und den Umstand, daß die angewandte Gabe durchaus noch nicht als Maximalgabe zu betrachten ist. sogar mit der Möglichkeit zu rechnen sein, daß man mit einer einmaligen höheren intravenösen Dosis Hydrochinin eine dauernde Befreiung des Körpers von Malariaparasiten wird erzielen können im Sinne der Therapia sterilisans magna *Ehrlichs*. Bedauerlicherweise ist dieser wertvolle Körper durch die gänzlich vernachlässigte Kultur der an Nebenalkaloiden reichen Chinabäume aus dem Handel nahezu verschwunden. ebenso wie das vorwiegend von der Remija pedunculata stammende, für die Synthese der höheren Chininhomologen und anderer Derivate so überaus wichtige Cuprein.

Wenn wir heute trotzdem in verhältnismäßig wohlfeiler Weise wenigstens mit dem Hydrochinin operieren können, so haben wir dies lediglich dem Umstande zu verdanken. daß man diesen Körper durch Hydrierung des Chinins mit Hilfe neuerer katalytischer Reduktionsverfahren auf verhältnismäßig einfache Weise gewinnen kann.

Die Wege. welche zu gehen sind, um mit Hilfe der Synthese zu neuen, vielleicht noch heilkräftigeren Chininderivaten zu gelangen. sind dank der nicht rastenden und erfolgreichen Forschung über die Konstitution des Chininmoleküls schon angedeutet und dürften unter Mitwirkung der Chemotherapie in absehbarer Zeit noch klarer gekennzeichnet werden. Wir wissen. daß einige Gruppen im Molekül an der malariziden Wirkung vorzugsweise beteiligt sind, und daß Substitutionen dieser Gruppen durch andere einen eu- bzw. distherapeutischen Effekt zur Folge haben. Wir kennen z. B. die aktive Rolle der am Chinolinrest sitzenden Metoxygruppe und wissen, daß die Substitution des Methylrestes durch ein H-Atom (Cuprein) eine Verminderung, durch Alkylreste der höheren Fettreihe (Chin-

[1]) *Macchiavelli*, Jahresberichte über die Fortschritte der Chemie. 1875. S. 772.

[2]) *Hesse*, Über Hydrochinin. Ann. d. Chem. 1887. Bd. **241**. S. 255.

[3]) *Giemsa* und *Werner*, Erfahrungen mit einigen Derivaten des Chinins bei Malaria. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1912. Beiheft 4. S. 65. (Untersuchungen über das Chinidin sind noch im Gange.)

äthylin usw.) eine Steigerung des pharmakodynamischen Effektes hervorruft. Weiterhin beweist die stärkere Wirkung, welche das Dihydrochinin gegenüber der Muttersubstanz ausübt, daß auch der Ersatz des ungesättigten Vinylrestes ($CH:CH_2$) in der oberen Seitenkette durch einen Äthylrest ($CH_2.CH_3$) nach dieser Richtung hin nicht gleichgültig ist. Allerdings scheint der stärkere Effekt des Hydroproduktes mehr ein indirekter und nur dadurch bedingt zu sein, daß dieser oxydierenden Agentien gegenüber sehr widerstandsfähige Körper im Organismus weniger zu unwirksamen Produkten abgebaut wird als das leicht oxydable Chinin. Mit dieser Auffassung stünde im Einklang, daß nach Verabreichung von Dihydrochinin mehr unverändertes Alkaloid ausgeschieden wird, als nach entsprechenden Chiningaben (*Giemsa*, *Werner* l. c.), gegen sie spräche die Tatsache, daß beide Körper gleich stark organotrop sind, während doch beim Hydrochinin auch eine entsprechend größere Toxizität gegenüber der Körperzelle erwartet werden müßte. Vielleicht lassen sich diese Unterschiede durch die Angaben von *Biddle*[1]) erklären, nach welchem es möglich erscheint, daß das Chinin im Organismus zum Teil in das stark organotrope Chinotoxin übergeführt wird.

```
CH2        CH      -- CH . CH : CH2        ——> Chinin
            |      |   (CH2 . CH3)         ——> Dihydrochinin
           CH2     |
            |      |
           CH2     |
 |          |      |
CH ———————— N ———— CH2
 |
CH . OH
 |
CH3O
        N
```

Chinin, Dihydrochinin.

Es ist von erheblichem Interesse, auch die Hydroprodukte anderer Chinaalkaloide und deren Derivate in den Bereich chemotherapeutischer Untersuchung bei Malaria zu ziehen. Die Aussichten, hierbei zu Körpern zu gelangen, welche eine größere antiparasitäre Kraft als die bisher bekannten Malariamittel aufweisen und die sich vielleicht auch gegen andere pathogene Protozoen als wirksam herausstellen, scheinen nicht schlechte zu sein. Die erst jüngst sichergestellte Überlegenheit des Hydrochinins dem Chinin gegenüber, sowie die sehr beachtenswerten Erfolge, welche *Morgenroth*[2])

[1]) *Biddle*, Umlagerung von Cinchonin und Chinin in ihre giftigen Isomeren. Ber. d. Deutschen chem. Ges. 1912. Bd. 45. S. 526.

[2]) *Morgenroth* und *Rosenthal*, Experimentell-therapeutische Studien bei Trypanosomeninfektionen. (III. Mitteilung.) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten. 1912. S. 501.

und seine Mitarbeiter kürzlich mit dem Äthylhydrocuprein bei Trypanosomen und sogar bei Bakterien erzielt haben, nicht zuletzt auch die schon länger zurückliegenden Arbeiten von *Grimaux* und *Arnaud* (l. c.) ermuntern durchaus zu solchen Versuchen.

Ebenso wichtig, wie die Gewinnung noch heilkräftigerer Chininabkömmlinge ist — namentlich in bezug auf die Therapie der Kindermalaria — die Herstellung von wirksamen Derivaten, welchen der äußerst lästige bittere Geschmack des Chinins fehlt.

Verschiedene derartiger Verbindungen hat man durch Veresterung der Hydroxylgruppe im Loiponomteil geschaffen, doch nur wenige haben sich in die Praxis eingeführt, weil sie erstens alle im Preise erheblich höher stehen als Chinin und weil die meisten diesem in bezug auf Heilkraft bei Malaria nicht entfernt gleichen. Am wirksamsten unter ihnen ist das nahezu gänzlich geschmacklose Insipin, der Chinindiglykolsäureester,

$$O\begin{cases} CH_2 \,.\, CO \,.\, O \,.\, C_{20} H_{23} N_2 O \\ CH_2 \,.\, CO \,.\, O \,.\, C_{20} H_{23} N_2 O \end{cases}$$

und das nur sehr leicht bitter schmeckende Euchinin, der Chininkohlensäureäthylester,

$$CO\begin{cases} O \,.\, C_2 H_5 \\ O \,.\, C_{20} H_{23} N_2 O. \end{cases}$$

1½—2 Teile dieser beiden Körper entsprechen pharmakodynamisch etwa einem Teil Chininchlorhydrat. Viel weniger wirksam ist z. B. das Aristochinin, der Dichininkohlensäureester,

$$CO\begin{cases} O \,.\, C_{20} H_{23} N_2 O \\ O \,.\, C_{20} H_{23} N_2 O \end{cases}$$

und das Salochinin, der Chininsalizylsäureester,

$$\begin{array}{l} C_6 H_4 \,.\, OH \\ | \\ COO \,.\, C_{20} H_{23} N_2 O. \end{array}$$

Mit der Prüfung dieser Verbindungen bei Malaria haben sich besonders eingehend *Mühlens*[1]) und *Werner*[2]) beschäftigt. Erwähnt sei, daß alle bis heute hergestellten geschmacklosen wirksamen Chininderivate wasserunlöslich sind und daß bei Prüfung derartiger Präparate stets darauf zu achten ist, daß sie in Form feiner Pulver verabreicht werden, da sonst eine ausgiebige Resorption nicht zu erwarten ist. Auch ein Nachtrinken salzsäurehaltigen

[1]) *Mühlens*, Über angebliche Ersatzmittel des Chinins bei der Malariabehandlung. Deutsche med. Wochenschr. 1903. Nr. 35.

[2]) *Werner*, Erfahrungen mit Insipin, einem fast völlig geschmacklosen Chininpräparat bei Malaria. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkr. 1912. Beiheft 1. S. 37.

Wassers befördert diese oft. Von den auf einfachere Weise gewonnenen, mehr oder weniger geschmacklosen Chininpräparaten kommen die gerbsauren Salze und unter ihnen insbesondere das von *Biginelli*[1]) angegebene mineralsäurefreie und sehr alkaloidreiche Tannat in Betracht, ferner die freie, vorzüglich resorbierbare Chininbase und nach *Fränkel*[2]) das Chininum albuminatum, eine Mischung von Chinin und Eiweiß, die in Wasser unlöslich ist, weil das Eiweiß geronnen ist, löslich dagegen in salzsaurem Wasser. Praktische Erfahrungen mit diesem Gemisch stehen anscheinend noch aus. Über weitere zu diesem Zwecke hergestellte Chininpräparate, deren Gewinnung u. a. m. siehe bei *Fränkel* (l. c.).

In der Hoffnung, darüber Anhaltspunkte zu gewinnen, in welcher Weise das Chinin auf die Malariaparasiten in vivo einwirkt, sind zahlreiche Untersuchungen über Resorption, Verteilung, Abbau und Ausscheidung des Alkaloides ausgeführt worden.

Fast alle neueren Forschungsergebnisse stimmen darin überein, daß das oral in mittleren Gaben und in resorbierbarer Form eingeführte Alkaloid im Organismus des Menschen zum größten Teil ($^2/_3$—$^3/_4$) in unbekannter Weise zerstört, der geringere Teil ($^1/_4$—$^1/_3$) als „unverändertes" Chinin wieder ausgeschieden wird. Nach *Plehn*[3]) und *Grosser*[4]) findet der Abbau vorzugsweise in der Leber statt (Durchblutungsversuch bei Katzen). Die Ausscheidung erfolgt fast ausschließlich durch den Harn, während sie in den Fäzes nur sehr gering ist. In die menschliche Muttermilch und in den Schweiß geht das Alkaloid nach neueren Untersuchungen (*Giemsa*[5]) und *Giemsa-Schaumann*[6]) nicht über. Die eingeführte Menge wird zum größten Teil in den ersten 24 Stunden eliminiert, nach 72 Stunden ist die Ausscheidung nachweisbarer Quantitäten in der Regel beendet. Bei subkutaner und intramuskulärer Einverleibung sind Übergang in die Zirkulation und Ausscheidung sehr von der Löslichkeit der angewandten Chininsalze und der Konzentration ihrer Lösung abhängig. Beides erfolgt um so schneller, je löslicher das Salz bzw. je verdünnter die Lösung ist und kann andrerseits sehr verzögert werden, wenn infolge Anwendung zu konzentrierter Lösungen Depotbildungen an den Injektionsstellen stattfinden. Für beide Injektionsarten besonders gut geeignet sind Lösungen von Chininchlorhydrat unter Zusatz von Äthylurethan (*Gaglio*, *Giemsa*[7]).

[1]) *Biginelli*, Wahre und falsche Handelstannate von Chinin. Gaz. chim. ital. 1907. Nr. 37. II. 205. Ref. Chem. Zentralbl. 1907. II. S. 2063.

[2]) *S. Fränkel*, Die Arzneimittelsynthese. 3. Aufl. Berlin 1912.

[3]) *A. Plehn*, Malaria und Chinin. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. 1907. S. 763.

[4]) *Grosser*, Über das Verhalten des Chinins im Tierkörper. Biochem. Zeitschr. 1908. Bd. 8. S. 98.

[5]) *Giemsa*, Wird eingenommenes Chinin mit der Muttermilch ausgeschieden? Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1911. S. 8.

[6]) *Giemsa-Schaumann*, Pharmakologische und chemisch-physiologische Studien über Chinin. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907. Beiheft 3.

[7]) *Giemsa*, Über Chinininjektionen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908. Beiheft 5. S. 82.

Der zerstörte Anteil bei der subkutanen Injektion ist größer als bei der stomachalen Einverleibung, bei der intramuskulären nähern sich die Werte den bei der oralen erhaltenen. Bei der Applikation per Klysma erhielten die einzelnen Autoren hinsichtlich Resorption und Ausscheidung sehr verschiedene Resultate.

Das Blut nimmt in auffallender Weise nur sehr geringe Mengen des oral eingeführten Chinins auf, gibt diese schnell an gewisse Organe ab, um sich wieder von neuem mit geringen Mengen zu beladen und so im ständigen Kreislauf schließlich große Quantitäten zu befördern, dabei finden sich diese Spuren des Alkaloids nie in den Blutkörperchen, sondern nur im Serum (*Giemsa-Schaumann* l. c.). Die natürlichen Abfangorgane für Chinin sind vorzugsweise Leber, Nieren, Nebennieren und Gehirn, weniger die Milz. In ihnen kann Chinin noch nachgewiesen werden, wenn der Harn wieder chininfrei geworden ist. Näheres hierüber, desgleichen über die Methoden des Nachweises sowie über ältere und neuere Literatur siehe bei *Giemsa-Schaumann* l. c., *Schmidt*[1]), *Gilchrist*[2]).

Außer dem Chinin und seinen Verwandten gibt es nur wenige Mittel, welche Malariaparasiten in vivo abzutöten imstande sind. Unter ihnen steht das Arsen und einige seiner Derivate an erster Stelle. Die arsenige Säure z. B. ist als eines der ältesten Mittel gegen Wechselfieber bekannt. Auch heute findet sie noch, namentlich in Verbindung mit Eisen und Chinin, vielfach bei Malaria Verwendung und sie unterstützt die Wirkung des Chinins bisweilen in ausgezeichneter Weise, besonders bei Fällen chronischer Malaria. In Verbindung mit Chininsulfat und Kaliumferrotartarat empfahl sie *Bacelli*, mit Chinindichlorhydrat und Eisenzitrat (Esanophele) *Grassi*, als Solutio Fowleri zusammen mit Antipyrinlösung *Guérin* (Literatur siehe bei *Ziemann*[3]).

In diesem Zusammenhange erscheint die Tatsache besonders interessant, daß in neuester Zeit eine aromatische Arsenverbindung, das Dioxydiamidoarsenobenzol *Ehrlichs* (siehe *Nierenstein*[4]), als ein sehr wirksames Antimalarikum erkannt wurde (*Nocht* und *Werner*[5]), *Werner*[6, 7, 8]), *Iversen*[9]). Dem Chinin gegenüber zeigt es allerdings einige Unterschiede.

---

[1]) *Schmidt*, Die Alkaloidchemie in den Jahren 1907—1911. Stuttgart 1911.

[2]) *Mc Gilchrist*, Quinine and its salts, their solubility and absorbability. Scient. mem. offic. med. san. dep. gov. India. New Ser. Nr. 41. 1911.

[3]) *Ziemann*, Malaria. Handb. d. Tropenkrankh. Herausg. von *C. Meuse*. Leipzig. J. A. Barth. 1906. Bd. 3.

[4]) *Nierenstein*, Dieses Handbuch. Bd. 5. 2. S. 1371.

[5]) *Nocht* und *Werner*, Beobachtungen über relative Chininresistenz bei Malaria aus Brasilien. Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 34. S. 1557.

[6]) *Werner*, ebenda. Nr. 39 und Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1911. S. 141.

[7]) Derselbe, Über die Behandlung der Malaria mit Ehrlich-Hata 606 und über Chininresistenz bei Malaria. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1911. S. 141.

[8]) Derselbe, Weitere Beobachtung über die Wirkung von Salvarsan bei Malaria. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1912. Beiheft 1. S. 18.

[9]) *Iversen*, Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 41. 13. Okt.

Während nämlich vom Chinin die Parasiten aller 3 Malariaarten mit annähernd gleicher Promptheit vernichtet werden, ist ein gleicher Effekt des Salvarsans nur bei der Tertiana zu konstatieren: dagegen verhalten sich die Parasiten der Tropica — bei Quartanafällen war die Wirkung unklar — insbesondere die Gameten (sogenannte Halbmonde) selbst gegen größte Dosen des Mittels refraktär.

Bezüglich der Wirkung des Atoxyls, des Mononatriumsalzes der Paramidophenylarsinsäure $[NH_2 . C_6 H_4 . As O (OH)_2]$ bei Malaria gehen die Ansichten auseinander. Über sehr gute Erfolge hiermit berichten *Georgopulos*[1]), während *Gonder* und *Dapas*[2]) nur geringe Wirkung, welche an die des Chinins keineswegs heranreichte, beobachten konnten.

Auch die Kakodylsäure wurde seinerzeit (von *Gautier*[3]) als ein vorzügliches Antimalarikum gerühmt. Dagegen fand *Mühlens* (l. c.), der gleichfalls mit dem von *Gautier* angegebenen Präparat (Monomethyldinatriumarseniat, $As (CH_3) O_3 Na_2$, auch Arrhénal genannt) arbeitete, kaum eine nennenswerte Beeinflussung der Parasiten.

Bemerkenswert ist, daß nach *Tappeiner*[4]) auch Phosphine, so das Methyl- und Dimethylphosphin $(PH_2 [CH_3], PH (CH_3)_2]$, also organische Körper, welche sich von einem dem Arsen chemisch sehr nahe stehenden Elemente ableiten, in Tagesdosen von 1—1·2 *g* vorübergehende Wirkung bei Malaria entfalten sollen.

Über sehr gute, mit pikrinsaurem Natron erzielte Effekte berichtet *Surveyor.*[5]) Zusammen mit Chinin subkutan gegeben soll es schneller als dieses allein wirken, und zwar insbesondere auf die Halbmonde der Tropika.

Von Farbstoffen hat bis heute nur ein einziger Eingang in die Malariatherapie gefunden, und zwar das von *Ehrlich* hierfür vorgeschlagene Methylenblau. Seine Wirkung ist indessen unzuverlässig und kann einen Vergleich mit Chinin nicht im mindesten aushalten. Heilversuche mit diesem Farbstoffe hielt man früher besonders in solchen Fällen für angezeigt, in denen Disposition zu einer durch Chinin auslösbaren Malariahämoglobinurie (siehe diese) vorlag, seitdem aber die Erfahrung gelehrt hat, daß diese Krankheit auch nach Methylenblaugaben auftreten kann, ist man von der Farbstofftherapie wieder ziemlich abgekommen. Verwendet wurde das chlorzinkfreie Chlorhydrat, das sogenannte Methylenblau medicinale der Höchster Farbwerke. (Versuche und Literatur siehe bei *Mühlens* (l. c.).

---

[1]) *M. Georgopulos,* Die Behandlung der Malaria mit Atoxyl. Münchener med. Wochenschr. Nr. 12. 1908.

[2]) *Gonder* und *Dapas,* Atoxylversuche bei Malariakranken. Wiener klin. Wochenschrift. 1908. Nr. 23.

[3]) *Gautier,* Sur un traitement spécifique très puissant des fièvres palustres. Compt. rend. hebdomad. 1902. 11. II. Paris.

[4]) *Tappeiner,* Über die Wirkung der Phenylchinoline und Phosphine auf niedere Organismen. Deutsches Arch. f. klin. Med. 1900. 56.

[5]) *Surveyor,* Some observations on Malaria etc. Annal. of Tropical Medic. and Parasitology. 1910/11. p. 333.

Serologische Methoden.

Alle bisher gemachten Versuche, die Malariaparasiten serotherapeutisch zu beeinflussen, sind als fehlgeschlagen zu betrachten. Weder die Bildung von Antitoxin noch von Parasitolylinen konnte nachgewiesen werden. In eingehender Weise beschäftigten sich *Celli*, *Ziemann* (l. c.) und *Ferrarini*[1]) mit diesen Fragen. *Celli* impfte einer Versuchsperson Tertianablut ein, derselben Person aber auch 135 cm^3 Blutserum von Malarikern, welches während der fieberfreien Pause gewonnen war, und zwar vor wie nach der Malariaimpfung. Trotz der Serumeinspritzung brach die künstliche Infektion 11 Tage nach der Malariaimpfung aus. Auch das Blutserum von geheilten Malarikern vermochte bei experimenteller Malariaimpfung nicht gegen die künstliche Infektion zu schützen, obgleich innerhalb 27 Tagen 150 cm^3 des betreffenden Serums eingespritzt worden waren. Ebenso führten Versuche mit prophylaktischer Einspritzung von Blutserum, Saft aus Milz, Knochenmark, Lymphdrüsen, Pankreas und Gehirn malariaimmuner Rinder, die bei künstlich mit Malariablut geimpften Personen gemacht wurden, zu keinem Resultat.

Trotzdem muß die Bildung antigener Stoffe im Organismus angenommen werden. Hierfür spricht die bisweilen, wenn auch sehr seltene Spontanheilung sowie eine gewisse Immunität, welche häufig von den erwachsenen Eingeborenen tropischer Gebiete erworben wird. Es ist durchaus keine Seltenheit, daß in derartigen Gegenden, besonders dann, wenn in ihnen reichliche Infektionsgelegenheit durch Anophelen vorhanden ist, unter den Kindern fast durchgängig Malaria festgestellt werden kann, während das Blut der Erwachsenen parasitenfrei ist. Über einschlägige Literatur und weitere Versuche siehe bei *Ziemann* (l. c., S. 439), über die allgemeinen Methoden der Immunitätsforschung Bd. III, S. 1185 dieses Werkes.

Komplementbindungsversuche bei Malaria

sind von einer Reihe von Autoren nach der von *Wassermann* angegebenen Methodik angestellt worden.

Sie führten in einer großen Reihe von Fällen zu positiven Resultaten. So erhielten positive Reaktion: *Boehm* in 34·8, *Meier* in 77, *de Blasi* in 52, *Baermann* und *Wetter* in 18·4, *Schüffner* in 8, *Ferrari* und *Gioseffi* in 16% der hierauf untersuchten Fälle. (Literatur siehe bei *Ferrari* und *Gioseffi*.[2]) *Cathoire*[3]) beobachtete Komplementschwund während des Anfalles und fand, daß die normale Komplementmenge erst gegen Ende desselben wieder vorhanden sei. Die erste Erscheinung wird seiner Ansicht

[1]) *Ferrarini*, La formazione di anticorpi specifici et la fissazione del complemento nella malaria. Rif. med. Nr. 7. 1911. p. 177.

[2]) *Ferrari* und *Gioseffi*, Die Wassermann-Reaktion bei Malaria. Revista di biochemica e terapia speriment. 1911. Nr. 3.

[3]) *Cathoire*, Baisse du pouvoir alexique du sérum dans l'accès paludéen. Compt. rend. société biolog. T. **69**. p. 562.

nach wahrscheinlich durch das Freiwerden der Parasiten bedingt. (Über Methodik s. Bd. III, 2, S. 1197 dieses Handbuches.)

Arzneifestigkeit der Malariaparasiten.

Resistenzunterschiede der Malariaparasiten sind bisher mit Sicherheit nur dem Chinin gegenüber festgestellt worden, und zwar handelt es sich hierbei in erster Linie um eine im Innern Brasiliens heimische Malaria, deren Erreger nach Mitteilungen von *Nocht* u. *Werner* [1]), *Neiva* [2]), *Ross* u. *Thomson* [3]) der üblichen Chininbehandlung auf das hartnäckigste widerstehen. Die naheliegende, jüngst durch *Morgenroth* u. *Rosenthal* (l. c.) von neuem aufgeworfene wichtige Frage, ob es sich in den vorliegenden Fällen um eine angeborene oder um eine durch die Chininbehandlung erworbene, dauernd bestehende und übertragbare Chininresistenz im Sinne der von *Ehrlich* entdeckten Arzneifestigkeit der Trypanosomen handelt, kann leider wegen Fehlen genügender Anamnesen noch nicht als endgültig geklärt betrachtet werden, wenngleich auch die Beobachtungen *Neivas* eine solche erworbene Festigkeit sehr wahrscheinlich machen.

Auch eine weitere für die Beurteilung dieser Verhältnisse wichtige Frage, ob nämlich eine derartige erworbene Festigkeit der Malariaparasiten bei der „Sporogonie" verloren geht oder persistiert, kann noch nicht als entschieden gelten. Bei einem anderen protozoischen Krankheitserreger (Trypanosoma) ist sie kürzlich von *Gonder* [4]) auf Grund experimenteller Untersuchungen in ersterem Sinne beantwortet worden.

Hinsichtlich der Abtötung chininresistenter Parasitenstämme, welche bis jetzt selbst nicht mit allergrößten Chinindosen zu erzielen war, könnten vielleicht systematische Versuche bei Malaria erfolgreich werden, welche auf einer sehr wichtigen von *Bilfinger* [5]) bei einem Falle heimischer Tertiana (Oderniederung) und später von *Morgenroth* und *Rosenthal* (l. c.) auf einer analogen, bei Trypanosomen gemachten Beobachtung basieren, nach welcher eine bestehende Resistenz durch das Einschieben einer Behandlung mit einem anderen chemotherapeutischen Agens verringert werden kann. Zeigte *Bilfinger*, daß es sich bei dem Verlust der Chininfestigkeit unter dem Einflusse der Salvarsanbehandlung um Rückkehr zu einer annähernd normalen Chininempfindlichkeit handelt, so konnten letztere Autoren

[1]) *Nocht* u. *Werner*, Beobachtungen über relative Chininresistenz bei Malaria aus Brasilien. Deutsche med. Wochenschr., 1910, Nr. 34, S. 1557 und *Werner* (l. c).

[2]) *Neiva*, Über die Bildung einer chininresistenten Rasse des Malariaparasiten Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 1910. p. 131.

[3]) *R. Ross* and *D. Thompson*, A Case of malarial fever, showing a true parasitic relapse, during vigosous and continuous quinine treatment. Annal. of Trop. Med. and Parasit. 1911/12. p. 539.

[4]) *Gonder*, Untersuchungen über arzneifeste Mikroorganismen. Zentralbl. f. Bakt. 1911. Orig. H. 1/2.

[5]) *Bilfinger*, Über Beeinflussung der Chininfestigkeit durch Salvarsan bei Malaria. Med. Klinik. 1911. Nr. 13. S. 486.

sogar feststellen, daß die Parasiten unter diesen Umständen von dem einen Extrem der „Chininfestigkeit" in das andere der „Chininüberempfindlichkeit" hinübergeführt werden.

Arbeiten bei Malariahämoglobinurie.

Bei der Beschäftigung mit der Malariahämoglobinurie wird sich dem Forscher in erster Linie die Frage nach den intimeren Ursachen, welche dem Entstehen und Verschwinden der temporären „Disposition" zu dieser Krankheit zugrunde liegen, aufdrängen. Bezüglich der mannigfachen Hypothesen, welche hierüber aufgestellt wurden, sei hier auf die Spezialliteratur, insbesondere die entsprechenden Arbeiten von *Nocht*, *F.* und *A. Plehn* (siehe *Ziemann*[1]) verwiesen. Biochemisch interessant sind die Umstände, unter denen die Krankheit zum Ausbruch kommt. In der Regel sind hierzu zwei Faktoren notwendig, es sind dies eine, wenn auch längere Zeit zurückliegende, sehr oft latente Malaria (latent = ohne Parasitenbefund im peripherischen Blut), welche die Disposition schafft und eine die Krankheit direkt auslösende Noxe, gewöhnlich ein Pharmakon. Auffallend hierbei ist, daß dasselbe nicht unbedingt parasitizid, wie z. B. Chinin, zu wirken braucht, sondern rein symptomatisch wie Antipyrin, Phenacetin u. dgl. und daß der Organismus bei Applikation von Chinin bisweilen schon auf geringste Gaben (0·01 *g*) mit einem hämoglobinurischen Anfall reagieren kann, während er andrerseits oft unmittelbar nach Ablauf eines solchen die vielfache Menge des Mittels reaktionslos verträgt. Auch die Tatsache ist von Interesse, daß von einverleibtem Chinin im Verlauf des hämoglobinurischen Anfalles prozentual mehr unverändertes Chinin mit Harn und Fäzes ausgeschieden wird als sonst, mit anderen Worten, daß der Organismus während dieser Zeit nicht in dem Maße als sonst imstande ist, sich des eingeführten Giftes durch physiologisch-chemische Eingriffe zu entledigen (*Giemsa-Schaumann* l. c.).

Leicht zu verfolgen ist der oft ganz enorme im Verlauf des Anfalles stattfindende Blutzerfall (Hämozytolyse). Es sind Fälle beschrieben worden, bei denen im Verlauf von 2 Tagen die Zahl der Erythrozyten von 4,310.000 auf 1,110.000, das Hämoglobin von 80 auf 20%, bisweilen sogar noch tiefer herabsank (Methoden siehe Bd. III, 2, S. 707 dieses Werkes). Lehrreich ist ferner das von der Norm sehr abweichende mikroskopische Blutbild (Romanowskyfärbung), welches, namentlich nach dem Anfall, durch die regenerativen Formen, d. h. Polychromasie und Normoblastose, imponiert. Bei schweren rezidivierenden Fällen können diese fehlen und Aplasie eintreten, ganz selten Megaloblastose. Während des Anfalles und in der Rekonvaleszenz wird man regelmäßig auch starke basophile Punktierung der Erythrozyten vorfinden. Näheres hierüber siehe bei *V. Schilling*.[2])

---

[1]) *Ziemann*, Das Schwarzwasserfieber. *Menses* Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 3. 1906. Leipzig.

[2]) *V. Schilling*, Das Blutbild und seine klinische Verwertung. Fischer. Jena 1912.

Die häufig bei der Malariahämoglobinurie eintretende Anurie und die hiermit in kausalem Zusammenhang stehende Harnvergiftung, ferner der stets vorhandene Ikterus lassen eine chemische bzw. chemisch-physikalische Untersuchung des Blutes, insbesondere des Blutserums, wünschenswert erscheinen.

Studien über das Pigment der Malariaparasiten.

Die bis vor kurzem vielfach vertretene Ansicht, daß das in den Parasiten vorhandene Pigment als Melanin aufzufassen sei, ist jüngst von *Brown*[1]) einer Revision unterzogen worden. Nachdem bereits 1891 *Carbone*[2]) auf die Ähnlichkeit des Pigmentes mit Hämatin hingewiesen und *Ascoli*[3]) die Identität dieser beiden Körper als sehr wahrscheinlich hingestellt hatte, konnte *Brown* auf Grund chemischer und spektroskopischer Untersuchungen (siehe Original) den sicheren Nachweis führen, daß das Pigment tatsächlich, und zwar ausschließlich aus Hämatin besteht. Dasselbe bildet sich nach seiner Ansicht aus dem Hämoglobin der Erythrozyten unter dem Einfluß eines im Parasiten vorhandenen proteolytischen Enzyms.

Im polarisierten Licht hat *Schaudinn* (l. c.) das Pigment untersucht und gefunden, daß es doppeltbrechend ist, und zwar in allen Stadien der Malariaparasiten. Der Autor arbeitete hierbei mit dem großen Mikroskop und dem dazugehörigen Polarisationsapparat von *Zeiss*, Jena, bei sehr starker künstlicher Beleuchtung (Zirkonlicht) für das Mikroskop, selbst im Dunkeln sitzend. Bei gekreuzten Nikols leuchtet das Pigment prachtvoll aus dem vollkommen dunkeln Parasitenkörper hervor. Diese Befunde *Schaudinns* sind allerdings in letzter Zeit von *Kaiserling*[4]) als irrig hingestellt worden.

Studien am Malariaparasiten im Ultramikroskop

sind von *A. Plehn*[5]) gemacht und beschrieben worden. Der Autor hält diese Beobachtungsweise weniger geeignet für das Auffinden der Parasiten, um so mehr aber für morphologische und biologische Studien am lebenden Plasmodium. Vakuolen, Chromatin und amöboide Bewegungen sollen in ausgezeichneter Weise zum Ausdruck kommen. Besonders bemerkenswert erscheint die Beobachtung, nach welcher sich die Parasiten nebst den von ihnen befallenen Erythrozyten bisweilen plötzlich auflösen und restlos verschwinden können.

[1]) *Brown*, Malarial pigment (so-called melanin): its nature and mode of production. The journal of experim. medic. Vol. **13**. 1911. p. 290.

[2]) *Carbone*, Giorn. d. r. Accad. di med. di Torino. 1841. Vol. **39**. p. 901.

[3]) *Ascoli*, Sul pigmento malarico. Policlinico. Bd. **17**. 1910.

[4]) *Kaiserling*, Nachweis, Vorkommen und Bedeutung der Zellipoide. Berliner klin. Wochenschr. 1910. S. 2156.

[5]) *A. Plehn*, Berliner klin. Wochenschr. 1910. S. 451.

Blutkörperchenzählung und Hämoglobinbestimmung

sind nach den in Bd. III. 2. S. 707 dieses Werkes. **Stoffwechseluntersuchungen** nach den ebenda (S. 994) beschriebenen Methoden auszuführen. Für die **Untersuchungen des Gasstoffwechsels** der Parasiten dürfte sich insbesondere der von *Nierenstein* für analoge Untersuchungen bei Trypanosomen (ibid. Bd. V. 2. S. 1384) beschriebene Apparat eignen. Vgl. auch „Die biologische Gasanalyse". Ibid. Bd. III. 1. S. 555.

Versuche in vitro.

Die ersten Versuche, Malariaparasiten in vitro durch Pharmaka zu beeinflussen. stammen von ihrem Entdecker *Laveran* (l. c.). welcher bereits 1881 feststellte. daß Chinin in Lösung von 1 : 1000 beim Vermischen mit gleichen Teilen Malariablut sofort eine Einstellung jeder Lebenserscheinung der Parasiten zur Folge hat. Eingehendere systematische Studien mit malariziden Mitteln verschiedener Art und Konzentration in vitro datieren erst aus neuerer Zeit. Eine von *Werner*[1]) geübte Methodik. die sich auf Versuche mit Dioxydiamidoarsenobenzol bei Tertianaparasiten bezieht und auch bei anderen Mitteln anwendbar ist, sei hier nebst der die Resultate verzeichnenden Tabelle wiedergegeben.

Je ein Tropfen parasitenhaltigen Blutes wurde mit einem Tropfen Salvarsanlösung steigender Verdünnung vermischt und in bestimmten Abständen unter dem Mikroskop kontrolliert. Die Parasitenbefunde waren folgende (s. Tabelle S. 217).

Wenn es die Umstände erlauben, dürfte es noch empfehlenswerter sein. mit etwas größeren Blutmengen nach der von *Ehrlich-Neven* für analoge Trypanosomenstudien angegebenen Reagenzglasmethode (siehe dieses Werk, Bd. V. 2. S. 380) zu operieren. Bei allen Versuchen dieser Art ist dafür Sorge zu tragen. daß die zu prüfenden Körper möglichst in neutraler Lösung zur Verwendung gelangen und daß sie mit Blut vermischt keine Fällungen hervorrufen.

Die Überlegung. daß gewisse Pharmaka in bestimmten Körperzellen des lebenden Organismus aufgespeichert werden. so das Chinin von der Nebenniere, Leber, Niere, hat *Giemsa* und *v. Prowazek*[2]) zur Prüfung der Frage veranlaßt. ob die Giftwirkung von Chinin der Protistenzelle gegenüber durch die gleichzeitige Anwesenheit derartiger Organzellen eine Veränderung erfahre. Es wurde das Verhalten des Alkaloides bzw. dieses + Organbrei dem Colpidium Colpoda (*Ehrenberg*) gegenüber studiert. indem bestimmte Mengen Chininchlorhydrat (1 : 1000, 2000. 3000 usf.) mit bestimmten Mengen Organemulsion von Leber. Milz. Niere, Neben-

[1]) *Werner*, Weitere Beobachtungen über die Wirkung usw. Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg., 1912. Beih. 1, S. 18.

[2]) *Giemsa* und *v. Prowazek*, Wirkung des Chinins auf die Protistenzelle. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908. Beiheft. S. 88.

	Verdünnung der Salvarsanblutmischung	Nach 1/4 Stunde	Nach 1 1/2 Stunden	Nach 2 Stunden	Nach 7 Stunden	Nach 19 Stunden	Nach 60 Stunden
1	1 : 65	lebend	lebend	lebend	unbeweglich, abgerundet	unbeweglich, tot	einzelne Pigmentklumpen in tropfig entmischten Protoplasmahaufen
2	1 : 650	„	„	„	unbeweglich	unbeweglich	unbeweglich
3	1 : 1300	—	„	vereinzelte lebende Parasiten	unbeweglich, abgerundet	„	unbeweglich, tropfige Entmischung
4	1 : 2600	—	„	—	unbeweglich	„	abgerundet, abgestorben
5	1 : 5200	—	„	—	unbeweglich	„	unbeweglich
6	1 : 10.400	—	„	—	unbeweglich, abgerundet	„	„
7	1 : 20.800	—	„	—	schwach beweglich	„	„
8	1 : 41.600	—	„	—	unbeweglich	„	„
9	1 : 83.200	—	„	—	schwach beweglich	„	„
10	1 : 166.400	—	„	—	lebend	„	„
11	1 : 332.800	—	„	—	„	„	unbeweglich, tropfige Entmischung
12	Blut mit Kochsalzlösung zu gleichen Teilen	—	„	lebend	„	lebend	unbeweglich
13	Blut unverdünnt	—	„	„	„	„	„

niere, ferner mit Serum und gewaschenen Blutzellen bei 37° 3 Stunden lang zusammengebracht wurden. Diesen Gemischen wurden dann bestimmte Quantitäten der Infusorien bei Zimmertemperatur zugesetzt und von Zeit zu Zeit mikroskopische Beobachtungen an entnommenen Tropfenproben angestellt. Die Versuche ergaben, daß Serum am wenigsten Chinin bindet, so daß die Infusorien in Lösungen von 1 : 5000—6000 bald absterben, also in einer Konzentration, die auch ohne Serumzusatz eben noch tödlich wirkt. Dagegen wird die Toxizität des Alkaloides durch den Einfluß des Organbreies zum Teil ganz erheblich herabgemindert, und zwar wird von

der Nebenniere am meisten gebunden, es folgen Leber, Niere und Milz. In dem Gemisch Nebenniere + Chinin vermehren sich die Infusorien sogar noch bei einer Alkaloidkonzentration, welche ohne Organbreizusatz sicher tödlich wirkt.

Berechnet man den Verteilungskoeffizienten für die Milz in der üblichen Weise, so erhält man z. B. für die Meerschweinchenmilz folgenden Wert:

$$\frac{\text{Chininkonzentration in Milz}}{\text{Chininkonzentration im Infusorienwasser}} = \frac{0{\cdot}09}{0{\cdot}00016} = 562{\cdot}5.$$

Versuche in vitro sind auch geeignet, in das Wesen der Giftwirkung mancher Substanzen tiefer einzudringen. Die genannten Autoren haben (l. c.) eine Methode beschrieben, mit welcher der Nachweis leicht gelingt, daß die unter Chinineinfluß stehenden Infusorien den Sauerstoff nicht mehr in der sonst gewohnten Weise aufzunehmen befähigt sind (vgl. *Binz* [1]).

Die Bildung von Parasitolysinen in vitro versuchte *Ziemann* und zwar in folgender Weise festzustellen.

Versuch 1. Das Serum eines seit 3 Tagen von M. tropica spontan geheilten Negerknaben, in dessen Blut noch pigmenthaltige Leukozyten gefunden wurden, wurde versetzt mit dem defibrinierten Blute eines an M. tropica neu erkrankten, noch nicht chininisierten Europäers im Verhältnisse von 4 : 1, 4 : 2, 4 : 4, 4 : 6, 4 : 8, 2 : 4, 2 : 6, 2 : 8. Das Europäerblut enthielt sehr reichliche Mengen kleiner ringförmiger Tropikaparasiten.

Versuch 2. Das Serum eines erwachsenen Negers, welcher schon vor Jahren auf künstliche Impfung mit 2 *cm*³ Tropikablut nicht reagiert hatte, auch keine Parasiten bei wiederholter Untersuchung im lebenden Blut gezeigt hatte, wurde in den bei Versuch 1 erwähnten Verhältnissen mit Malariablut von einem an M. tropica erkrankten Europäer versetzt. Da in dem betreffenden Orte nur M. tropica vorkommt, hatte der immune Eingeborene, wenn er überhaupt je malariakrank gewesen war, Tropikainfektion gehabt. Naturgemäß wird man bei solchen Versuchen, um Fehlerquellen zu vermeiden, nur das Blut von Personen verwenden, die an einer Infektion mit Malariaparasiten gleicher Art gelitten hatten.

Versuch 3. Isotonische 0·9⁰/₀ige Kochsalzlösung wurde in denselben Verhältnissen mit dem Tropikablut des Europäers gemischt.

Alle Versuche fanden statt im hängenden Tropfen, mit Abschluß der Luft durch Vaseline, allerdings bei einer Temperatur von nur 25—28°. Sie wurden auf 6 Stunden ausgedehnt.

Resultat dieser 3 Versuche: Von einer spezifischen, parasitolytischen Wirkung der zwei Negerimmunsera auf die Parasiten des Europäers war

[1]) *Binz*, Über Einwirkung des Chinins auf Protoplasmabewegung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 3. 1869; vgl. auch Arch. f. path. Anat. 1867. S. 23.

im Romanowskypräparat nichts zu bemerken, ebensowenig von einer Wirkung der als Kontrolle dienenden Kochsalzlösung.

Die Wiederholung derartiger Versuche würde zweckmäßiger bei Körpertemperatur stattfinden. Besonders würde hierbei auch die M. tertiana zu berücksichtigen sein, um die Wirkung eines sogenannten Immunserums auf die freien, also am leichtesten zu beeinflussenden Stadien der Parasiten, Merozoiten und Sporulationsformen, zu beobachten (*Ziemann* l. c.).

Über das Verhalten der Protozoen im allgemeinen chemischen Agenzien gegenüber siehe *v. Prowazek*.[1])

Züchtungsversuche mit Malariaparasiten

sind wiederholt teils anaerob, teils aerob, jedoch stets ohne Erfolg angestellt worden. Wohl gelang es, die Plasmodien unter besonders günstigen Bedingungen eine Reihe von Tagen am Leben zu erhalten, dagegen war in keinem Falle eine Vermehrung zu konstatieren.

Ob die kürzliche Mitteilung von *Bass*[2]), nach welcher es dem Autor gelungen sein soll, die 3 Formen der Malariaparasiten „lebendig zu erhalten und ohne Schwierigkeit zu züchten", Nachprüfungen standhalten wird, bleibt abzuwarten. Über die Versuchsanordnung, welcher Gesichtspunkte der Immunitätslehre zugrunde liegen und die im Prinzip darin bestehen soll, daß man die Kultur sofort in eine Temperatur bringt, welche die Komplementbildung verhindert, aber noch nicht hoch genug ist, um den Mikroorganismus zu zerstören, ist leider gar nichts näheres gesagt, so daß die Bedingungen für die Möglichkeit einer exakten Nachprüfung zurzeit noch fehlen.

Versuche mit Affenmalaria.

Nach Entdeckung der Affenmalaria durch *Rob. Koch* im Jahre 1898 (siehe *Kossel*[3]) und der späteren Feststellung, daß deren den menschlichen Tertianfieberparasiten so ungemein ähnlichen Erreger bei Affen verschiedener Art und Erdteile weit verbreitet sind, schien die Möglichkeit gegeben, durch das Tierexperiment verschiedene die menschliche Malaria berührende noch unbeantwortete Fragen der Klärung näher zu bringen. Leider haben sich die hierauf gesetzten Hoffnungen bis jetzt nur zum Teil erfüllt, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß dieses Gebiet erst vor verhältnismäßig kurzer Zeit der Forschung erschlossen wurde und daß das Experimentieren mit Affen sehr kostspielig und meist auch recht mühevoll ist. Es läßt sich heute auch noch nicht übersehen, nach welcher Rich-

[1]) *v. Prowazek,* Einführung in die Physiologie der Einzelligen. 1910. Leipzig und Berlin. (Monographie.)

[2]) *Bass,* Neue Gesichtspunkte in der Immunitätslehre, ihre Anwendung bei der Kultur von Protozoen etc. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1912. S. 117.

[3]) *Kossel,* Über einen malariaähnlichen Parasiten beim Affen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. 1899. Bd. 32.

tung hin hierbei Erfolg zu erwarten ist. Versuche, Affenmalaria auf den Menschen zu übertragen oder Menschenmalaria auf den Affen sind leider bis jetzt nicht geglückt. Es ist nicht einmal gelungen, die Malaria des Orang-Utan auf Gibbons oder gar niedere Affen erfolgreich zu verimpfen (*Halberstaedter* und *v. Prowazek*[1]), nur Übertragungsversuche zwischen Affen derselben Art waren mit Erfolg begleitet. Spritzt man solchen Tieren subkutan 10—15 Tropfen infiziertes schizontenhaltiges Blut ein, so darf man in 9—13 Tagen den Ausbruch der Malaria erwarten.

Während der schizogonische Zyklus, der sich im Blute in ganz derselben Weise wie bei der menschlichen Malaria abspielt, in allen seinen Phasen bekannt ist, konnte die sporogonische Entwicklung in der Mücke nur bis zur beginnenden Zystenbildung verfolgt werden (*Mayer*[2]).

Dem Studium der chemotherapeutischen Beeinflussung der Parasiten in vivo haben sich bis jetzt erhebliche Schwierigkeiten in den Weg gelegt, die vornehmlich darin bestehen, daß bei der Affenmalaria große Neigung zur Spontanheilung bzw. zum Eintritt eines Latenzstadiums — ohne Parasitenbefund im peripheren Blut — vorhanden ist. Auch Versuche, beim Affen Malariahämoglobinurie zu erzeugen, sind trotz Anwendung verschiedener Arzneimittel fehlgeschlagen.

Gonder und *Rodenwald*[3]) suchten durch Exstirpation der Milz bei malariainfizierten Affen einen Anhalt dafür zu gewinnen, ob dieses Organ, welches bekanntlich bei der menschlichen Malariahämoglobinurie anormal in Anspruch genommen ist (Milzschwellung), irgend welche nähere Beziehungen zu dieser Krankheit aufweise. Sie erreichten ihr erstrebtes Ziel nicht, konnten aber gelegentlich dieser Arbeiten einige andere biochemisch interessante Tatsachen feststellen.

1. wurde durch die Entmilzung die Pathogenität der Parasiten (Plasmodium Kochi) erhöht, indem sich deutliche, sonst nicht bestehende Temperaturerhöhungen vom Tertianatypus — entsprechend der alle 48 Stunden neu einsetzenden Schizogonie — einstellten, 2. wurde eine von der Norm abweichende Überschwemmung des Blutes mit Parasiten beobachtet und 3. ein sonst nicht vorhandenes Verbleiben der Parasiten im peripheren Blut während einer langen Reihe von Monaten, eine Beobachtung, welche unter anderem auch einen sehr großen praktischen Wert besitzt, weil es hierdurch möglich wird, bei der Fortzüchtung eines Malariastammes mit verhältnismäßig wenig Tieren auszukommen.

Die Exstirpation der Milz wurde entweder unter Narkose oder unter *Schleich*scher Lokalanästhesie ausgeführt. Um ein schnelles Heilen der Wunde zu erzielen, wurde dem Tiere ein von den Achselhöhlen bis zu den Darm-

[1]) *Halberstaedter* und *v. Prowazek*, Untersuchungen über die Malariaparasiten der Affen. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. 1907. S. 37.

[2]) *Martin Mayer*, Über Malariaparasiten beim Affen. Arch. f. Protistenkunde. 1908. S. 314.

[3]) *Gonder* und *Rodenwaldt*, Experimentelle Untersuchung über Affenmalaria. Zentralbl. f. Bakt. I. 1910. Bd. 54. S. 236.

beinkämmen reichendes Gipskorsett angelegt, durch welches sie verhindert wurden, mit den Fingern den Verband in Unordnung zu bringen.

Versuche mit Vogelmalaria.

Morphologisch wie biologisch gleichfalls sehr nahestehend mit dem menschlichen Malariaparasiten ist der Erreger der Vogelmalaria (Plasmodium praecox, *Grassi* und *Feletti*), eine Hämosporidie, welche in einigen Vogelarten ihre agame Stadien durchmacht und dort malariaähnliche, oft zum Tode führende Fieber- und Anämiezustände hervorruft. Sie wird gleichfalls durch Stechmücken, allerdings nicht durch Anophelinen, sondern durch Culicinen übertragen, nachdem sie dort eine dem menschlichen Parasiten ganz ähnliche sporogone Entwicklung vollendet hat.

Das Proteosoma ist für die Kenntnis der pathogenen Protozoen insofern von besonderer Wichtigkeit, weil *Ross*[1]) zuerst bei dieser Form den gesamten Wirt- und Generationswechsel entdeckt und so der neueren Malariaforschung die richtigen Wege gewiesen hat.

Da die Culicinen — in Europa kommen hauptsächlich Culex pipiens, Culex nemorosus, nach *Neumann* auch Stegomyia fasciata in Betracht — im allgemeinen viel leichter zu züchten sind als Anophelinen und die Übertragung bei verschiedenen Vögeln, wie Hühnern, Enten, Tauben, Sperlingsvögeln usw. gelingt, da ferner die Erreger durch Chemotherapeutika (z. B. Chinin) beeinflußbar sind, bietet sich dem Malariaforscher beim Proteosoma sehr gute Gelegenheit zu vergleichenden Studien verschiedenster Art.

Die geschlechtliche Generation gedeiht nach *Neumann*[2]) am besten zwischen 24 und 30°, unterhalb 16° findet gar keine Entwicklung statt. Die Mikrogametenbildung dauert im Magen vom Culex bei ca. 27° $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden, die Kopulation $^1/_2$—1 Stunde, die Bildung der Ookeniten 58—60 Stunden, der Zysten ca. 30 Stunden, der Sporozoiten 6—7 Tage, das Überwandern in die Speicheldrüse 9—11 Tage. Etwa 12—16 Tage nach dem Einsaugen des parasitenhaltigen Blutes kann die Mücke infizieren. Alle Prozesse gehen bei tieferen Temperaturen bedeutend langsamer vor sich.

Die Schwere der Krankheit nimmt in der Regel mit der Vermehrung der im Blut kreisenden Parasiten zu. Bei letalen Fällen findet man die Blutkörperchen gewöhnlich massenhaft infiziert. Manche Erythrozyten können dann von 5—6 Parasiten befallen sein. Die Akme der Infektion wird bei künstlich infizierten Kanarienvögeln am 8.—10. Tage erreicht, von da ab pflegen die Parasiten aus dem peripheren Blut zu verschwinden.

Chemotherapeutische Mittel werden in vivo bei größeren Tieren durch intravenöse, bei kleineren durch intramuskuläre Injektion (Brustmuskel)

[1]) *Ross*, Report on a preliminary investigation etc. 1898 (l. c.).

[2]) *R. O. Neumann*, Die Übertragung von Plasmodium praecox auf Kanarienvögel durch Stegomyia fasciata etc. Arch. f. Protistenkunde. Bd. **13**. H. 1. 1908.

einverleibt. Bei unlöslichen Körpern kann man sich nach eigener Erfahrung auch sehr gut der Stopfmethode bedienen, indem man die Mittel in angefeuchteten Gelatinekapseln oder Oblaten durch den geöffneten Schnabel so tief in den Mund bringt, bis Schluckbewegung einsetzt.

Kopanaris[1]) und *Anschütz* haben bei entsprechenden Versuchen eine deutliche Beeinflussung der Parasiten durch Chinin gesehen, dagegen verhielten sich die Erreger gegen Salvarsan und Atoxyl gänzlich refraktär (*Kopanaris*). Ein Zerreißen des Schizontenprotoplasmas, wie es bei den Malariaparasiten bei Chininwirkung beobachtet wird, konnte beim Proteosoma nach wirksamen Chiningaben nicht festgestellt werden. Mit Versuchen in vitro, welche wie die bei der menschlichen Malaria beschriebenen ausgeführt werden, beschäftigten sich *v. Wasielewski*[2, 3]) und *Richter*.

Sie beobachteten, daß Lösungen von Chininchlorhydrat (1 : 20.000) im Eisschrank so gut wie gar nicht auf die Parasiten einwirkten. Auch stärkere Lösungen (1 : 10.000 und 1 : 3.000) bleiben im Eisschrank unwirksam, während bei Zimmertemperatur bereits erstere dieser beiden Lösungen die Plasmodien tötet. Bei einer Verdünnung von 1 : 2.000 bleibt schon nach 30 Minuten nur ein Teil der Proben infektionskräftig, während Lösungen von 1 : 1.200 schon im Verlauf von 5 Minuten tödlich wirken.

Bezüglich der entsprechenden Literatur sei auf das neueste zusammenfassende Werk von *v. Prowazek*[4]) verwiesen, in welchem sich unter anderem auch Angaben über Immunitätsverhältnisse vorfinden.

---

[1]) *Kopanaris*, Die Wirkung von Chinin, Salvarsan und Atoxyl auf die Proteosomainfektion des Kanarienvogels. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1911. S. 586.

[2]) *v. Wasielewski*, Über die Verbreitung und künstliche Übertragung der Vogelmalaria. Arch. f. Hyg. 1901. S. 68—84.

[3]) Derselbe, Studien und Mikrophotogramme zur Kenntnis der pathogenen Protozoen. Leipzig 1908 (vgl. dort weitere Literatur).

[4]) *v. Prowazek*, Die Malaria der Vögel aus Handb. d. pathog. Protozoen. Barth. Leipzig 1912. (Ausführliche Literaturangaben.)

Die optische Methode und das Dialysierverfahren als Methoden zum Studium von Abwehrmaßregeln des tierischen Organismus.

Die Diagnose der Schwangerschaft bei Mensch und Tier mittelst der genannten Methoden.

Von **Emil Abderhalden,** Halle a. S.

Die optische Methode[1]) und ihre Verwendbarkeit zu biologischen und namentlich auch zu Fragestellungen aus dem Gebiete der gesamten Pathologie ist bereits in Bd. V dieser Arbeitsmethoden, S. 575, geschildert worden. Sie gestattet den Nachweis abbauender und eventuell auch aufbauender Fähigkeiten des Blutplasmas und -serums, der Lymphe und von Organmazerations- resp. Organpreßsäften. Die optische Methode erfordert Substrate, die optisch aktiv sind oder doch optisch-aktive Spaltprodukte liefern. Das Substrat muß ferner eine klare Lösung ergeben. In jedem einzelnen Falle wird es darauf ankommen, für bestimmte Fragestellungen das richtige Substrat aufzufinden. Geht man von Körpern der Gruppe der Proteine aus, dann wird man fast in allen Fällen auf die Gewinnung von Peptonen aus diesen angewiesen sein, um zu klaren Lösungen zu gelangen. Die Darstellung der Peptone bereitet keine Schwierigkeiten, wenn man sich ganz genau an die Vorschrift hält. Sie sei noch einmal an Hand der Gewinnung des Plazentapeptons geschildert.

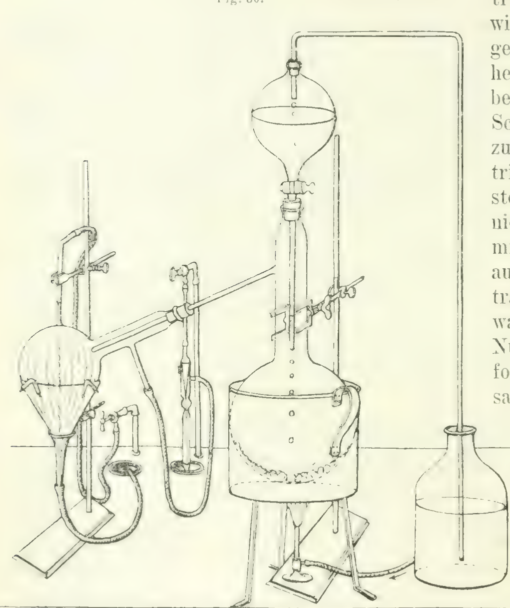
Darstellung von Pepton aus Plazenta.

Frische Plazenten werden sorgfältig von Blut befreit. Man kommt am raschesten zum Ziel, wenn man die Plazenta in kleine Stücke zerschneidet und diese dann in fließendem Wasser ausspült. Der ganze Prozeß soll nicht mehr als 15 Minuten in Anspruch nehmen. Die einzelnen Stückchen werden nun zwischen Filtrierpapier abgepreßt und in 70%ige Schwefelsäure eingetragen. Von dieser nimmt man zirka die 5fache Gewichtsmenge des angewandten Plazentagewebes. Man läßt das Gemisch unter wiederholtem Umschütteln 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Jetzt stellt man das Gefäß in Eiswasser, verdünnt dann unter Rühren mit dem 10fachen Vol. destillierten Wassers und entfernt nun rasch die Schwefelsäure mit Baryt. Man trägt am besten zunächst fein pulverisierten Baryt in Substanz und schließlich in Lösung ein. Die Menge, die notwendig ist, um die Schwefelsäure zu binden, kann man aus der angewandten Menge Schwefelsäure annähernd berechnen. Da der Baryt des Handels nie ganz rein ist, son-

[1]) Vgl. die theoretischen Grundlagen in *Emil Abderhalden,* Schutzfermente des tierischen Organismus. Ein Beitrag zur Kenntnis der Abwehrmaßregeln des tierischen Organismus gegen körper-, blut- und zellfremde Stoffe. J. Springer, Berlin 1912.

dern immer kohlensauren Baryt enthält, so ist eine genaue Berechnung nur möglich, wenn reiner unkristallisierter Baryt verwendet wird. Der Zusatz des Baryts wird unter fortwährendem Umrühren vorgenommen. Geht man nicht von berechneten Mengen Baryt aus, dann kann man sich zunächst mittelst eines Lackmuspapieres davon überzeugen, ob die Schwefelsäure gebunden ist. Ist die Reaktion neutral geworden, dann filtriert man ab. Man benutzt entweder einen doppelten Faltenfilter, oder man filtriert auf einer Nutsche. Das erste Filtrat ist oft trüb. Es wird so lange filtriert, bis das abfließende Filtrat ganz klar ist. Nun wird das Auffanggefäß gewechselt und das vorher durchgegangene, trübe Filtrat zurückgegossen. Schneller kommt man zum Ziel, wenn eine Zentrifuge zur Verfügung steht. Den Baryumsulfatniederschlag wäscht man mit viel kaltem Wasser aus. Die gesamten Filtrate und das Waschwasser werden vereinigt. Nunmehr wird nach erfolgter Mischung der Gesamtflüssigkeit in Proben auf Schwefelsäure resp. auf Baryt geprüft.[1]) Ist das Filtrat frei von beiden, d. h. gibt weder Zusatz von Baryt noch von Schwefelsäure eine Trübung, dann wird es unter vermindertem Druck bei 40—50° des Wasserbades zur Trockne verdampft. Schäumt die Lösung, dann läßt man sie durch einen Tropftrichter in den Destillationskolben tropfen. Vgl. Fig. 50. Es verbleibt schließlich je nach der Art des Eindampfens ein dicker, gelber Sirup oder eine schaumige, blättrige Masse. Sie kann entweder direkt in dieser Form verwendet werden, oder man reinigt das Peptongemisch in der in der früheren Mitteilung S. 580 geschilderten Weise.


Fig. 50.



Vor der Benutzung des Peptons prüfe man die dargestellte 5—10%ige klare Lösung einmal auf ihr Drehungsvermögen und dann mit Hilfe von

[1]) Vergl. weitere Einzelheiten über die Entfernung von Schwefelsäure mittels Baryts in: *Emil Abderhalden*, Physiologisches Praktikum. J. Springer, Berlin 1912, S. 101 ff.

Blutserum von einer Schwangeren, ob eine Änderung der Anfangsdrehung erfolgt. Ferner stelle man fest, ob die Peptonlösung selbst die Drehung beibehält. Die Lösung des Peptons wird unter Toluol aufbewahrt. Sie bleibt jahrelang unverändert, wenn man dafür sorgt, daß immer eine Schicht Toluol über der Lösung lagert. Beim Gebrauch entnimmt man sie mittelst einer Pipette, die unter die Toluolschicht geführt wird.

Bemerkungen über die Ablesung der Drehung.

Hat man das Substrat mit der zu prüfenden Körperflüssigkeit in einem Reagenzglas gemischt und festgestellt, daß keine Trübung oder gar eine Fällung eingetreten ist, dann füllt man nunmehr das Gemisch in das Polarisationsrohr. Nun wird sofort das Drehungsvermögen abgelesen. Dann stellt man das Rohr in den Brutschrank und liest die Drehung noch einmal ab, nachdem der Inhalt des Rohres die Temperatur des Brutschrankes angenommen hat. Es ist dies sehr bald der Fall. Jedenfalls wird in den gewöhnlichen Fällen kaum eine Spaltung in dieser Zeit zu beobachten sein. Die beiden Ablesungen ergeben meistens fast das gleiche Resultat. Wir konnten höchstens Unterschiede von 0·02—0·03° beobachten. Handelt es sich nicht um Versuche, die rasch ohne vorherige Vorbereitungen erledigt werden müssen, dann füllt man zweckmäßig den Mantel des Polarisationsrohres mit Wasser von 40° und füllt erst dann das Rohr mit der zu untersuchenden Flüssigkeit, oder man bewahrt die nicht im Gebrauch befindlichen Röhren im Brutschrank auf, damit sie immer eine Temperatur von ca. 37° haben.

Die Ablesungen müssen mit einem sehr guten Polarisationsapparat vorgenommen werden. Wichtig ist, daß die einzelne Ablesung rasch vorgenommen wird. Man wähle bei einem dreiteiligen Feld das eine Mal das mittlere Feld dunkel und dann hell und stelle ein. Aus den erhaltenen Werten wird das Mittel genommen. Es ist besser, die Ablesung nach etwa 5 Minuten nochmals zur Kontrolle zu wiederholen, als die einzelne Ablesung ohne Unterbrechung so lange vorzunehmen, bis man viele Einzelwerte hat. Das Auge ermüdet sehr rasch. Ich selbst verfahre, wie folgt. Meistens handelt es sich um das Ablesen ganzer Serien von Versuchen. Die Polarisationsröhren werden dem Brutschrank entnommen und in das optische Zimmer gebracht. Dieses wird verschlossen und nun die Lampe des Polarisationsapparates angezündet. Nun warte ich, bis das Auge sich an die Dunkelheit adaptiert hat und stelle nunmehr das Drehungsvermögen der einzelnen Proben rasch hintereinander fest. Ist die Ablesung der Serie beendet, dann wird nach einer Pause von ca. 2 Minuten nochmals die Ablesung bei allen Proben wiederholt. Die einzelnen Werte werden auf Zettel notiert und erst beim Eintragen in das Protokoll untereinander und mit den früheren Ablesungen verglichen. Es wird so jede Beeinflussung ausgeschaltet. Es ist ganz selbstverständlich, daß vor und nach jeder Serie von Ablesungen festgestellt wird, ob der Nullpunkt unverändert ist. Es ist dies namentlich dann erforderlich, wenn mehrere Benutzer des Polarisations-

apparates vorhanden sind. Unterläßt man diese Feststellung, dann können große Irrtümer entstehen.

Die optische Methode erfordert Übung. Sie ist sehr leicht zu erlernen, wenn eine genügende Sehschärfe vorhanden ist. Es läßt sich leicht feststellen, daß manche Personen für die optische Methode ganz ungeeignet sind, weil sie dauernd sehr wechselnde Ablesungen machen, während andere gleich von Anfang an eine große Sicherheit in der Ablesung zeigen. Es ist durchaus notwendig, daß jeder einzelne, der mit der optischen Methode zu arbeiten wünscht, sich vorher prüft, wie weit er in der Lage ist, scharfe Ablesungen vorzunehmen. Es sollen keine 0·04° übersteigende Beobachtungsfehler vorkommen.

Die optische Methode wird bei vielen Fragestellungen unersetzbar sein. Sie zeigt, ob unter den gleichen Bedingungen ein bestimmter Abbau gleich rasch und in der gleichen Richtung verläuft. Ich bin überzeugt, daß mit ihr noch manchen klinischen Problemen neue Bahnen gewiesen werden.

Das Dialysierverfahren.

Um festzustellen, ob ein kolloides Substrat durch eine bestimmte Flüssigkeit in diffundierbare Bruchstücke zerlegt wird, kann man mit großem Vorteil das sogenannte Dialysierverfahren anwenden. Es sei an Hand eines Beispieles geschildert.

Frische Plazenta wird, wie vorher geschildert, vollständig entblutet. Der ganze Prozeß wird so rasch als möglich durchgeführt. Während des Auswaschens hat man bereits in einem Emailletopf oder einer Porzellanschale Wasser zum Kochen erhitzt. In das siedende Wasser trägt man die Plazentastückchen ein. Es empfiehlt sich, dem Wasser auf 1 Liter einen Tropfen Eisessig zuzusetzen. Das Kochen wird 5—15 Minuten fortgesetzt. Das Wasser wird dann rasch abdekantiert und durch neues ersetzt. Es wird wieder 5—15 Minuten gekocht und nun eine Probe des Auskochwassers auf Biuretreaktion geprüft. Sie fällt stets negativ aus, wenn die Plazenta frisch war und rasch ausgewaschen wurde. Erhält man eine positive Biuretreaktion, dann muß das Wasser nochmals gewechselt werden. Sobald das Auskochwasser keine Biuretreaktion gibt, wird es mit den nun koagulierten Plazentastückchen in eine weithalsige Flasche gegossen. Nach dem Überschichten mit Toluol wird das so gewonnene Material verschlossen aufbewahrt. Man kann auch fötale und mütterliche Teile der Plazenta getrennt verarbeiten und zu den Proben eventuell nur den fötalen Teil verwenden. Da es in erster Linie auf eine möglichst rasche Verarbeitung ankommt, so empfiehlt es sich von einer Trennung abzusehen, wenn nicht besondere Fragestellungen vorliegen. Man muß dann natürlich darauf achten, daß zu den Proben fötales Gewebe verwandt wird. Der gleichzeitig vorhandene mütterliche Anteil der Plazenta stört erfahrungsgemäß nicht.

Zur Anstellung der Proben geht man, wie folgt, vor. Man entnimmt der Versuchsperson resp. dem Versuchstier ca. 10 *cm*³ Blut. Es wird direkt in einem Zentrifugierröhrchen aufgefangen. Nach erfolgtem Gerinnen wird zentrifugiert. Von dem vollständig hämoglobinfreien Se-

rum gibt man 2—3 *cm*³ in eine Diffusionshülse Nr. 579 (zu beziehen bei *Schleicher & Schüll*, Düren, Rheinland). Dann fügt man ca. 1 *g* des koagulierten Plazentagewebes in zirka erbsengroßen Stückchen, das man der erwähnten Aufbewahrungsflasche entnommen hat, hinzu und gießt gerade so viel Toluol auf, daß die Oberfläche des Serums davon bedeckt ist. Man überzeugt sich, daß das Plazentagewebe ganz von Serum bedeckt ist. Nunmehr hält man mit zwei Fingern die Öffnung der Diffusionshülse zu und hält sie unter strömendes Wasser. Diese Maßnahme wird ergriffen, um zu vermeiden, daß etwa außen an der Hülse anhaftende Teile von Serum resp. Plazenta Täuschungen veranlassen. Jetzt stellt man die Diffusionshülse in ein ihr angepaßtes Gefäß, das man mit 15 bis 20 *cm*³ Wasser beschickt. Das Wasser soll die Diffusionshülse mindestens so hoch umgeben, als im Innern das Gemisch steht. Das Gefäß muß somit ziemlich eng sein. Auch die Außenflüssigkeit wird mit Toluol abgeschlossen. Nun stellt man das Ganze ca. 16 Stunden in den Brutschrank und prüft dann die Außenflüssigkeit auf Spaltprodukte aus den Proteinen der Plazenta.

Zum Nachweis von Eiweißabbauprodukten im Dialysat haben sich bis jetzt folgende Verfahren bewährt: 1. die Biuretreaktion. Man nimmt 10 *cm*³ des Dialysates und gibt in einem Reagenzglas 5 *cm*³ 33%ige Natronlauge hinzu. Man mischt sorgfältig und läßt jetzt aus einer Bürette oder Pipette sehr vorsichtig Tropfen um Tropfen einer sehr stark verdünnten, eben noch schwach blau gefärbten Kupfersulfatlösung zufließen (0·25%ige Lösung). Es muß hierbei eine Überschichtung eintreten. Der entstandene Ring zeigt, wenn keine Peptone zugegen sind, blaue Farbe. Außerdem beobachtet man die flockige Fällung von Kupferhydroxyd. Ist dagegen Pepton vorhanden, dann ist zumeist der Ring ganz klar und an der Grenze gegen die alkalische Lösung beobachtet man eine violettrote bis rein rötliche Färbung. Sie hebt sich gegen die beiden Grenzschichten — einerseits die farblose Lösung, andrerseits der blaue Ring des Kupferions — scharf ab.

Diese Reaktion hat den Nachteil, daß sie nur bei sehr sorgfältiger Ausführung und großer Übung sofort eindeutige Resultate gibt. Der nicht sehr Geübte kann in manchen Fällen im Zweifel sein, ob die Reaktion positiv oder negativ ist. Liegt jedoch genügende Übung vor, dann läßt die Methode kaum im Stich.

2. Anwendung von Triketohydrindenhydrat: Man nimmt 10 *cm*³ des Dialysates, das man aus dem Gefäß mittelst einer Pipette entnimmt, um das Toluol nicht mitzuerhalten. Zu der Lösung gibt man im Reagenzglas 0·2 *cm*³ einer 1%igen wässerigen Triketohydrindenhydratlösung. Nun wird rasch erhitzt und das Gemisch 1 Minute im Kochen erhalten. Bei positiver Reaktion tritt prachtvolle Blaufärbung ein. Ist sie negativ, dann bleibt die Lösung farblos oder sie wird schwach gelb.

Man muß bei der Anstellung der Triketohydrindenhydrat-Reaktion genau nach der Vorschrift verfahren, weil z. B. das Serum selbst Stoffe enthält, die mit dem genannten Reagens Blaufärbung geben. Aus diesem Grunde muß man sehr wenig von der verdünnten Lösung des Reagenzes anwenden und ferner auch wenig Serum, am besten nur 2 *cm*³, nehmen. Ferner muß das Plazentagewebe vor dem Gebrauch so lange mit Wasser ausgekocht werden, bis das Kochwasser mit Triketohydrindenhydrat keine

Blaufärbung mehr gibt. Es kann die Biuretreaktion negativ ausfallen und trotzdem enthält das Kochwasser noch größere Mengen von Substanzen, die mit dem genannten Reagens reagieren. Das Reagens wird von den Farbwerken *Meister Lucius & Brüning*, Höchst a. M., in den Handel gebracht.

Bei all diesen Proben sind Doppelversuche und Kontrollproben unerläßlich. Man arbeite nie unter Verhältnissen, die man nicht ganz genau übersieht. Man muß wissen, ob das Serum nicht schon an und für sich ein Dialysat liefert, das die entscheidenden Reaktionen gibt. Ebenso muß man prüfen, ob das verwendete, koagulierte Plazentagewebe dialysable Verbindungen enthält, die die erwähnten Reaktionen geben. Am besten stellt man alle Reaktionen in der Weise ein, daß man das Serum von sicher schwangeren Individuen und solches von sicher nicht Schwangeren auf Plazentagewebe einwirken läßt und prüft, unter welchen Bedingungen die Reaktion im einen Fall positiv ist und im anderen sicher ausbleibt. Die gegebenen Vorschriften dürften wohl immer genügen. Am zweckmäßigsten prüft man das Dialysat mit Hilfe der Biuretprobe und mittelst Triketohydrindenhydrat. Verfügt man über einen Polarisationsapparat, so ziehe man auch die optische Methode zu Rate. Die Probe mit Triketohydrindenhydrat, das sei nochmals ausdrücklich hervorgehoben, erforderte ganz besonders sorgfältige Kontrollproben, weil dieses Reagens mit allen Stoffen reagiert, die in α-Stellung zur Karboxylgruppe eine Aminogruppe besitzen. Die Biuretreaktion ist nach dieser Richtung eindeutiger, weil das normale Serum keine dialysablen Körper enthält, die diese Reaktion geben.

Selbstverständlich kann man genau die gleichen Methoden für viele andere Fragestellungen verwenden. Wir haben z. B. die Cerebrospinalflüssigkeit bei verschiedenen Erkrankungen des Nervensystems (Epilepsie, metasyphilitischen Prozessen etc.) auf ihre abbauenden Fähigkeiten geprüft. Ferner haben wir begonnen, das Krebsproblem auf diesem Wege zu bearbeiten. Es ist festgestellt, daß Karzinomzellen auf der Blutbahn verschleppt werden. Das ist nur dann möglich, wenn im Blut keine Substanzen vorhanden sind, die die blutfremden Zellen abbauen können, oder wenn die auf diese eingestellten Fermente nicht ausreichen, um den Abbau durchzuführen. Spritzt man einem normalen Tiere Eiweiß oder Peptone von Karzinomen in die Blutbahn ein, dann zeigt es nach kurzer Zeit Stoffe im Blut, die das eingespritzte Material zerlegen. Vielleicht könnte man auf diesem Wege feststellen, ob der an Karzinom Erkrankte sich der Bildung von Metastasen erwehren kann oder nicht. Ferner könnte durch Prüfung der Einwirkung von Serum Krebskranker auf Karzinomgewebe die Diagnose Krebs gestellt werden, falls der betreffende Organismus noch über Schutzmaßregeln (Schutzfermente) gegen die Invasion von blutfremden Zellen verfügt.

Es wird sich empfehlen, bei Versuchen, die der Auffindung von Fermenten gewidmet sind, zunächst mit Hilfe des Dialysierverfahrens zu prüfen, ob solche vorhanden sind und dann mit der optischen Methode den feineren Mechanismus des Abbaus zu studieren.

Ich denke mir die Verfolgung verschiedenartiger Probleme aus dem Gebiete der Pathologie, wie folgt: Ist kein besonderes Substrat bekannt, das, aus bestimmten Körperzellen stammend, die Sekretion von Fermenten

in das Blutplasma hervorruft, dann werden eine Reihe von Diffusionshülsen mit je zirka 1 *g* von koagulierten Organteilen verschiedener Art (Nieren-, Leber-, Schilddrüsen-, Nervengewebe usw.) beschickt und in genau der gleichen Weise mit Serum übergossen und dann das Gemisch der Dialyse unterworfen, wie es oben geschildert worden ist. Am besten hält man sich koagulierte Organteile der verschiedensten Art vorrätig. Findet man, daß bei einer bestimmten Krankheit die Proteine oder auch ein bestimmtes Protein eines bestimmten Organes und nur dieses vom Blutserum abgebaut wird, dann würde man ohne Zweifel zu ganz neuen Fragestellungen und neuen Einblicken in die Natur dieser Erkrankung gelangen. Genau ebenso kann man das Serum auf Mikroorganismen der verschiedensten Art im Dialysierschlauch einwirken lassen. Vor Täuschungen bewahrt man sich durch Kontrollversuche mit Serum allein und dem Substrat allein.

Es wird nicht nur von Interesse sein, alle jene Erkrankungen zu prüfen, die gewisse Analogien mit anaphylaktischen Symptomen zeigen, sondern vor allen Dingen auch alle jene Prozesse, zu erfolgen, die auf das Versagen oder vielleicht in manchen Fällen auf eine Abartung der Funktion eines ganz bestimmten Organes zurückzuführen sind. Wir denken an die Drüsen mit innerer Sekretion. Gerade diese Organe — wahrscheinlich gehören alle Körperzellen ohne Ausnahme dazu — übermitteln dem Blute vielleicht bei ungenügender Funktion Stoffe, die nicht bluteigen sind. Die Zellen haben das Sekret nicht vollendet — es fehlt gewissermaßen noch der letzte Schliff.

Um Mißverständnissen vorzubeugen, sei noch besonders betont, daß nicht nur Proteine, Kohlehydrate komplizierter Natur, Fette, Phosphatide, Nukleoproteide usw. blutfremd sein können, sondern auch alle möglichen Abbaustufen der verschiedensten Art. Man wird mit der optischen Methode mittelst solcher Abbaustufen mancherlei Fermente nachweisen können. Handelt es sich um Fermente ganz spezifischer Art, dann wird es oft sehr schwer halten, das richtige Substrat aufzufinden. Es kann unter Umständen natürlich das Dialysierverfahren versagen und die optische Methode ein positives Resultat ergeben. Es ist dies dann der Fall, wenn Fermente im Blutserum vorhanden sind, die auf Abbaustufen von Proteinen eingestellt sind und nicht auf Eiweiß. Es liegt hier noch ein weites Feld der Forschung vor! Werden erst unsere Kenntnisse der Zellfermente bessere sein, dann wird man diese selbst prüfen und Abweichungen nachspüren können.

Von besonderem Interesse ist es, die Infektionskrankheiten genauer mit den angegebenen Verfahren zu studieren. Baut das Blutserum von Tuberkulösen Tuberkelbazilleneiweiß ab? Wie verhält sich das Blutserum nach erfolgter Injektion von Tuberkulin? Sind Fermente im Blutserum vorhanden, die das injizierte Material oder tuberkulöses Gewebe abbauen? Ferner, wie verhält sich das Blutserum nach erfolgter Injektion von Heilserum? Hier werden das Dialysierverfahren und die optische Methode vielleicht von praktischer Bedeutung werden, wenn es gilt festzustellen, ob bei einer zweiten Injektion eine Anaphylaxie droht.

Endlich sei noch hervorgehoben, daß das Dialysierverfahren in ausgezeichneter Weise dazu geeignet ist, um die bei der Fermentwirkung sich bildenden Abbaustufen auf ihre Wirkung zu prüfen. Es wird das Dialysat entweder direkt oder nach erfolgtem Einengen im Vakuum Tieren

eingespritzt. Gewiß wird man bei Erweiterung unserer Kenntnisse die auf genanntem Wege erhaltenen Körper auch chemisch untersuchen können.

Selbstverständlich sind die gleichen Methoden und Fragestellungen auf andere Stoffe, wie Kohlehydrate, Nukleoproteide etc. anwendbar.

Nachtrag: 1. Die Diffusionshülsen sind vor dem Gebrauch auf ihre Undurchlässigkeit für Eiweiß und ihre Durchlässigkeit für Peptone zu prüfen. Die erstere Prüfung nimmt man am besten mit Eiereiweiß oder Serum vor, zu der letzteren benutze man *Witte*-Pepton oder Pepton aus Seide.

2. Durch Eindampfen des Dialysates läßt sich, falls dieses direkt keine deutliche Reaktion mit Lauge und Kupfersulfat gibt, die Biuretreaktion verstärken.

3. Die Reaktion des Triketohydrindenhydrates mit Verbindungen, die in α-Stellung zum Carboxyl eine Aminogruppe tragen, wird durch Säuren und Alkalien stark beeinflußt. Man verwende als Außenflüssigkeit bei der Dialyse destilliertes Wasser und führe die Versuche nur in Räumen aus, in denen weder saure noch alkalische Dämpfe vorhanden sind. Da das Triketohydrindenhydrat ein sehr empfindliches Reagens auf die genannten Verbindungen ist, muß mit besonderer Sorgfalt darauf geachtet werden, daß alle Gefäße und Instrumente (Pipetten) vollständig rein sind.

4. Hervorgehoben sei endlich, daß es nicht genügt, wenn das gekochte Plazentagewebe bei der Dialyse ein Dialysat liefert, das mit Triketohydrindenhydrat keine Blaufärbung gibt. Es muß das Kochwasser des Plazentagewebes selbst frei von reagierenden Verbindungen sein, denn es könnten leicht Serum und Plazentagewebe zusammen jene Menge von reagierenden Verbindungen an das Dialysat abgeben, die notwendig ist, um eine Blaufärbung zu erzeugen, trotzdem Plazenta und Serum allein im Kontrollversuch eine negative Reaktion ergaben.

5. Stets ist zu beachten, daß die Biuretreaktion im Dialysat Peptone, d. h. Verbindungen anzeigt, die im Serum normalerweise nicht nachweisbar sind. Mit dem Triketohydrindenhydrat weisen wir außerdem Verbindungen nach, die im Blutserum stets vorhanden sind. Wir wählen die Serummenge so gering, daß erfahrungsgemäß das Dialysat des Serums keine Triketohydrindenhydratreaktion ergibt. Erst die im Innern des Dialysierschlauches sich durch fermentativen Abbau bildenden Stoffe erhöhen den Gehalt des Dialysates von mit dem genannten Reagens unter Farbstoffbildung reagierenden Stoffe so stark, daß nunmehr Blaufärbung auftritt, wenn das Dialysat mit dem Reagens gekocht wird. Stets stelle man, um jeder Täuschung vorzubeugen, eine Kontrollprobe mit der gleichen Menge Serum, die zum Plazentagewebe zugesetzt wird, allein an. Gibt das Dialysat des Serums keine Blaufärbung, während dasjenige des Gemisches Serum + Plazenta unter Blaufärbung reagiert, dann ist das Resultat eindeutig. Alle Regeln gelten natürlich auch für jedes andere Organgewebe und jede andere Substanz.

Methoden zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments, des Fibrinferments und des Fibrinogens.

Von **J. Wohlgemuth**, Berlin.

I. Quantitative Bestimmung des diastatischen Ferments.[1]

Die von mir angegebene Methode verlangt folgende Lösungen:

a) 1%ige Stärkelösung, hergestellt aus *Kahlbaums* löslicher Stärke und aus destilliertem Wasser:

b) $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung.

Ausführung.

Eine Reihe von fortlaufend numerierten Reagenzgläsern wird mit absteigenden Mengen der zu untersuchenden Fermentlösung beschickt in der Weise, daß in das erste Gläschen 1·0 *cm*³, in das zweite 0·5 *cm*³, in das dritte 0·25 *cm*³, in das vierte 0·125 *cm*³ usf. kommen, und zu jedem Gläschen 5·0 *cm*³ 1%iger Stärkelösung zugefügt. Jedes Röhrchen wird sofort, nachdem es die Stärkelösung erhalten hat, in ein Gefäß mit Eiswasser gebracht, in dem sich ein Glas oder besser noch ein Drahtkorb zur Aufnahme des Gläschens befindet. Diese Abkühlung bezweckt, jede Fermentwirkung fürs erste hintanzuhalten. Alsdann wird der Drahtkorb mit sämtlichen Gläschen in ein Wasserbad von 38—40° übertragen und 30 Minuten bis 1 Stunde bei dieser Temperatur belassen. Nach Ablauf der Frist kommen sämtliche Gläschen auf ein paar Minuten wieder in das Eiswasser, um die Fermentwirkung in allen gleichzeitig zu unterbrechen, werden etwa bis fingerbreit vom Rande mit gewöhnlichem Wasser aufgefüllt und endlich mit $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung in geringem Überschuß versetzt. Dabei beobachtet man verschiedene Färbungen, wie dunkelblau, blauviolett, rotgelb und gelb. Diejenigen Gläschen, welche eine gelbe bis rotgelbe Farbe aufweisen, enthalten — wenn wir von einem weiteren Abbau der Stärke zu Maltose resp. Isomaltose und Traubenzucker absehen — nur noch Achroodextrin

[1]) *J. Wohlgemuth,* Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. Biochem. Zeitschr. **9**. 1 (1908).

resp. Erythrodextrin, die mit einer blauvioletten Farbe enthalten ein Gemisch von Erythrodextrin und Stärke und die mit einer dunkelblauen Farbe vorwiegend unveränderte Stärke.

Als unterste Grenze der Wirksamkeit (limes) gilt dasjenige Gläschen, in dem zuerst die blaue Farbe erkennbar ist; meist hat dieses Gläschen eine violette Farbe. Mitunter begegnet man aber Röhrchen, bei denen neben einem starken roten Ton ein blauer kaum oder äußerst schwach zu erkennen ist. In diesen Fällen also, in denen man schwankt, welches Röhrchen schon als unterste Grenze aufzufassen ist, tut man gut, noch einen Tropfen der Jodlösung hinzuzufügen, und beobachtet nun beim Umschütteln, ob der blaue Farbenton bestehen bleibt oder in Rotbraun übergeht. Im ersten Falle wird dieses Röhrchen schon als limes anzusehen sein, im anderen dagegen erst das nächstfolgende.

Aus der vor dem limes-Röhrchen stehenden Portion wird dann die Fermentwirkung so berechnet, daß man die Anzahl Kubikzentimeter einer 1%igen Stärkelösung bestimmt, die durch 1·0 *cm*³ der untersuchten Fermentlösung in der nämlichen Zeit bis zum Dextrin abgebaut wird. Hat man beispielsweise den Versuch auf 30 Minuten bei einer Temperatur von 38° ausgedehnt und gefunden, daß 0·05 *cm*³ der Fermentlösung gerade noch genügten, um 5 *cm*³ Stärkelösung vollkommen bis zum Dextrin abzubauen, so würde sich hieraus für 1 *cm*³ berechnen

$$D_{30'}^{38^0} = \frac{1}{0 \cdot 05} \cdot 5 = 100,$$

wobei unter D zu verstehen ist die diastatische Kraft für 1 *cm*³ der Fermentlösung.

Mittelst dieser Methode kann man die diastatische Kraft bestimmen in sämtlichen Sekreten und Exkreten, in Körperflüssigkeiten und Organen. Dabei sind folgende Punkte besonders zu beachten:

1. Bei der Untersuchung des Speichels.

Man untersucht das Sekret in dem Zustande, wie man es vom Tier oder Menschen gewonnen hat, ohne an seiner Reaktion etwas zu ändern. Nur hat man dafür zu sorgen, daß ihm kein Blut beigemengt ist, da die Gegenwart von Blut die diastatische Kraft stark fördert.

Für vergleichende Versuche genügt eine Versuchsdauer von 30 Minuten. Will man aber die ganze diastatische Kraft im Speichel bestimmen, so muß man den Versuch auf 24 Stunden ausdehnen. Dabei ist es notwendig, die mit Ferment und Stärke in der oben beschriebenen Weise beschickten Gläschen zur Verhütung von Fäulnis noch mit etwas Toluol zu versetzen und fest zu verschließen, ehe man sie auf 24 Stunden in den Brutschrank stellt.

2. Bei der Untersuchung von Pankreassaft.

Für ihn gilt das gleiche wie für den Speichel.

3. Bei der Untersuchung von Blut, Lymphe, Transsudat, Exsudat, Zysteninhalt.

Will man im Blut die Diastase bestimmen, so entnimmt man dem betreffenden Individuum ein paar Kubikzentimeter Blut, defibriniert und zentrifugiert es und verwendet zum Versuch ausschließlich das Serum. Da aber die Diastasemenge im Serum im Verhältnis zum Speichel und Pankreassaft verschwindend klein ist, so kommt hier für die quantitative Diastasenbestimmung in erster Reihe eine Versuchsdauer von 24 Stunden in Betracht.[1])

Neuerdings habe ich[2]) die Methode so modifiziert, daß man auch bei einer so geringe Diastasemengen enthaltenden Lösung wie dem Serum mit einer Versuchsdauer von 30--60 Minuten auskommt, wenn es sich um Vergleichsresultate handelt. Bei dieser Modifikation ist die Fermentverteilung die gleiche wie sonst. Statt der 1%igen Stärkelösung verwendet man aber eine 1‰ige, und zwar setzt man von dieser nur 2·0 cm^3 zu jedem Gläschen zu. Danach kommen die Gläschen in ein Wasserbad von 38—40°, werden nach 30 resp. 60 Minuten wieder herausgenommen, abgekühlt und nun nicht mit Wasser aufgefüllt, sondern sofort mit Jod versetzt. Statt der $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung bedient man sich hier zweckmäßiger einer $\frac{1}{50}$ n-Jodlösung. – Die mit dieser Methode ermittelten Resultate, deren Berechnung ganz analog der oben angegebenen geschieht, werden zum Unterschied von den mit 1%iger Stärkelösung gewonnenen mit d bezeichnet unter Angabe der Temperatur und der Verdauungszeit.

Für menschliches Blut hat sich mit diesem abgekürzten Verfahren der Durchschnittswert ergeben $d^{38^0}_{30'} = 8—16$, in maximo 32, mit dem 24stündigen Verfahren $D^{38^0}_{24^h} = 20—40$, in maximo 80.

Für die Untersuchung von Lymphe, Exsudat, Transsudat und Zysteninhalt gilt das gleiche wie für Blut.

4. Bei der Untersuchung von Organen.

Hierfür verwendet man entweder die Preßsäfte, die man sich aus den Organen eines durch Entbluten getöteten Tieres hergestellt hat oder man bereitet aus ihnen nach der Vorschrift von *Wiechowski* ein Organpulver, extrahiert einen aliquoten Teil dieses Pulvers mit physiologischer Kochsalzlösung und führt mit dem Extrakt die Diastasebestimmung aus. Für die quantitative Messung der Diastase in solchen Organpreßsäften resp. -extrakten hat man bisher ausschließlich die 24stündige Methode angewandt.[3])

5. Bei der Untersuchung von Urin.[4])

---

[1]) *J. Wohlgemuth*, Über das Verhalten der Diastase im Blut. Biochem. Zeitschr. 21. 381 (1909).

[2]) *J. Wohlgemuth* und *Y. Noguchi*, Experimentelle Beiträge zur Diagnostik der subkutanen Pankreasverletzungen. Berliner klin. Wochenschr. 1912. Nr. 23. S. 1069.

[3]) *J. Wohlgemuth* und *J. Benzúr*, Über den Diastasegehalt verschiedener Organe des Kaninchens unter normalen und pathologischen Bedingungen. Biochem. Zeitschr. 21. 460. 1909.

[4]) *J. Wohlgemuth*, Über das Verhalten der Diastasen im Urin. Biochem. Zeitschr. 21. 432. 1909.

Der Urin wird im nativen Zustand ohne Rücksicht darauf, ob er sauer oder alkalisch reagiert, zum Versuch verwandt, und zwar bedient man sich bei ihm wie beim Serum teils der halbstündigen, teils der 24stündigen Methode. Bei der Ermittlung der absoluten Werte ist das 24stündige Verfahren anzuwenden, für vergleichende Untersuchungen genügt die halbstündige Methode unter Verwendung 1⁰/₀₀iger Stärkelösung. Diese Methode kommt vorwiegend in Betracht bei der Prüfung der Nierenfunktion, wie ich sie neuerdings empfohlen habe.[1]) Man kann sie auch für die Diagnostik der Pankreaserkrankungen verwenden, wenn es sich darum handelt festzustellen, ob der Ausführungsgang des Pankreas durch einen Tumor oder einen Stein verschlossen, oder ob ein Teil der Drüse von der äußeren Sekretion abgeschnitten ist, oder ob durch einen Stoß gegen den Leib subkutan das Pankreas eine Verletzung erlitten hat. Durchschnittlich schwanken die Werte für den menschlichen Urin zwischen $d_{30'}^{38^\circ} = 16—32$, in maximo 64 und zwischen $D_{24^h}^{38^0} = 40—80$, in maximo 160.

6. Bei der Untersuchung von Fäzes.[2])

Hierbei verfährt man folgendermaßen: Eine auf der Handwage abgewogene Menge von 5 *g* frischem Kot wird in einer Reibschale mit 20 *cm*³ einer 1⁰/₀igen Kochsalzlösung verrieben, und zwar in der Weise, daß man von dem abgemessenen Quantum Kochsalzlösung erst ein paar Kubikzentimeter zufügt, so lange verreibt, bis sich ein vollkommen homogener Brei gebildet hat, wieder etwas Kochsalzlösung zufügt und verreibt und so weiter verfährt, bis man die gesamte Flüssigkeitsmenge mit dem Kot verrieben hat. Dann läßt man noch 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen, rührt in der Zwischenzeit häufig um und prüft die Reaktion des Extraktes. Ist sie sauer, so neutralisiert man vorsichtig mit verdünnter Sodalösung, ist sie alkalisch, so ändert man nichts daran. Alsdann verteilt man den dünnen flüssigen Brei in gleichmäßiger Weise (je 10 *cm*³) auf 2 Zentrifugierröhrchen, die genau gegeneinander tariert sind und eine Graduierung von 10 *cm*³ tragen. Dann wird so lange zentrifugiert, bis die festen Bestandteile sich abgesetzt haben, was innerhalb 10—15 Minuten erreicht ist, und nun die Höhe des festen Rückstandes und der Menge Flüssigkeit an der Graduierung in beiden Röhrchen abgelesen und notiert. Hat man unmittelbar vor der Übertragung des Breies auf die Zentrifugierröhrchen noch einmal gründlichst durchgerührt, so wird man nach Beendigung des Zentrifugierens finden, daß der Rückstand in beiden Röhrchen die gleiche Höhe einnimmt. Glaubt man, daß der Rückstand bei weiterem Zentrifugieren noch mehr zusammensinken würde, so läßt man die Zentrifuge noch weitere 5 Minuten laufen. Bei einer elektrischen Zentrifuge genügt es, die Gläschen höchstens 15 Minuten lang in Betrieb zu halten. Alsdann

[1]) *J. Wohlgemuth,* Experimentelle Beiträge zur Prüfung der Nierenfunktion. Berliner klin. Wochenschr. 1910. Nr. 31 und Zeitschr. f. Urologie. 5. 801. 1911.

[2]) *J. Wohlgemuth,* Beitrag zur funktionellen Diagnostik des Pankreas. Berliner klin. Wochenschr. 1910. Nr. 3.

gießt man die überstehende Flüssigkeit ab und bestimmt in ihr in einem 24stündigen Versuch quantitativ den Diastasegehalt.

Die Berechnung wird dann in folgender Weise ausgeführt. Nehmen wir beispielsweise an, daß aus demjenigen Gläschen die Diastasemenge zu berechnen ist, in dem 0·032 cm^3 Extrakt enthalten waren, so wird sich folgende Gleichung ergeben:

$$0{\cdot}032 : 5 = 1 : x$$

$$x = \frac{5{\cdot}1}{0{\cdot}032} = 156{\cdot}25.$$

Nun muß man weiter in Rechnung setzen die Menge des Rückstandes, die in 5 *g* Kot enthalten ist. Nehmen wir an, wir hätten beim Zentrifugieren gefunden für den Rückstand 2·5 cm^3 und für die Menge des Extraktes 7·5 cm^3, so wird 1 cm^3 Rückstand entsprechen: $\frac{7{\cdot}5}{2{\cdot}5}$ cm^3 Extrakt = 3 cm^3 Extrakt. Da nun 1 cm^3 Extrakt, wie vorhin berechnet, 156·25 Fermenteinheiten enthält, so entspricht 1 cm^3 Rückstand = 3 × 156·25 = 468·75 Fermenteinheiten. Demnach würde sich aus diesem Beispiel für die Diastasemenge im Kot der Wert ergeben $Df^{38^0}_{24h} = 468{\cdot}75$, wobei $Df^{38^0}_{24h}$ bedeuten würde die Diastasekonzentration in 1 cm^3 Kotrückstand bei einer Versuchsdauer von 24 Stunden und einer Temperatur von 38°. Will man nun noch die Diastasemenge für den gesamten Kot berechnen, so braucht man nur dessen Gewicht in Beziehung zu setzen zu der Menge des Ausgangsmateriales und zu dem Werte, den man für $Df^{38^0}_{24h}$ gefunden hat.

Die Herstellung des Extraktes und die Durchführung des Versuches empfiehlt sich nur in der hier angegebenen Weise. Jede Modifikation oder „Vereinfachung", wie sie gelegentlich empfohlen worden ist, ist unzulässig, da dann die Resultate völlig ungenau werden.

II. Quantitative Bestimmung des Fibrinfermentes.[1])

Wenn man frisches Blut aus der Ader entnimmt und es durch Schlagen mit einem Glasstab defibriniert und dann zentrifugiert, so ist in dem Serum dieses so behandelten Blutes Fibrinferment in bestimmter Menge vorhanden. Um dessen Quantität genau festzustellen, gehe ich folgendermaßen vor:

Eine Reihe von Reagenzgläsern wird mit absteigenden Mengen des ganz frisch gewonnenen Fibrinfermentes (Serum) beschickt, die Volumdifferenzen mit den entsprechenden Quantitäten 1%iger Kochsalzlösung ausgeglichen und zu jeder Portion 2 cm^3 eines nach *Alexander Schmidt* hergestellten Magnesiumsulfatplasmas in der Verdünnung von 1 : 10 zugefügt. Das Plasma gewinnt man in der Weise, daß man vom Hund oder Kanin-

[1]) *J. Wohlgemuth,* Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes und des Fibrinogens in Körperflüssigkeiten und Organen. Biochem. Zeitschr. 25. 79. 1910.

chen mittelst einer Kanüle 3 Teile Blut in 1 Teil der vorgeschriebenen Magnesiumsulfatlösung (1 : 3) einfließen läßt, das Gemisch stark abkühlt und durch scharfes Zentrifugieren das Plasma von dem Blutkörperchen trennt. Dieses Plasma hält sich im Eisschrank wochenlang, ohne seinen Gehalt an Fibrinogen wesentlich zu ändern. — Nachdem die Gläschen in der oben beschriebenen Weise mit Serum, Kochsalzlösung und Plasma beschickt sind, werden sie, um jeden schädlichen Einfluß der Wärme auf das sehr empfindliche Fibrinferment zu vermeiden, in den Eisschrank gesetzt und 24 Stunden darin belassen. Während dieser Zeit geht die Gerinnung in den einzelnen Gläschen, soweit sie einen hinreichenden Fibrinfermentgehalt besitzen, vor sich. Nach Ablauf der Frist nimmt man sie aus dem Eisschrank heraus und stellt nun, ohne zu schütteln, nur durch horizontales Neigen eines jeden Röhrchens fest, wo eine Gerinnung stattgefunden hat und wo sie ausgeblieben ist. Dabei beobachtet man, daß in dem Gläschen mit viel Serum der ganze Inhalt erstarrt ist (komplette Gerinnung), dann folgen solche, in denen nur eine teilweise Gerinnung stattgefunden hat (partiell), ferner solche, in denen bloß noch ein kleines Gerinnsel zu konstatieren ist (etwas Spur) und endlich solche, bei denen nur ein feines Häutchen zu beobachten ist, oder die absolut klar geblieben sind (—). Als Beispiel sei eine Versuchsreihe angeführt.

Serummenge	Magnesiumsulfat Plasma	Nach 24stündigem Aufenthalt im Eisschrank
1 = 1·0	2·0 cm^3	komplett
2 = 0·5	2·0 „	„
3 = 0·25	2·0 „	„
4 = 0·125	2·0 „	„
5 = 0·062	2·0 „	fast komplett
6 = 0·032	2·0 „	partiell
7 = 0·016	2·0 „	etwas
8 = 0·008	2·0 „	

Bei der Berechnung der Fibrinfermentmenge geht man in der Weise vor, daß man diejenige Serummenge als Einheit setzt, die noch imstande ist, ein deutlich erkennbares Gerinnsel zu erzeugen — in dem mitgeteilten Versuch wäre es die in Gläschen 7 enthaltene Menge (0·016 cm^3) — und nun berechnet, wieviel Fibrinfermenteinheiten in 1 cm^3 Serum enthalten sind. Für den vorliegenden Fall würden sich demnach an Fibrinfermenteinheiten für 1 cm^3 Serum ergeben $= \frac{1·0}{0·016} = 62·5$. Der Abkürzung halber bezeichne ich die Menge der Fibrinfermenteinheiten in 1 cm^3 Serum mit Ff, somit wäre im obigen Versuch gefunden worden Ff = 62·5.

Auf diese Weise kann man gleichzeitig ohne Mühe eine Reihe von Sera auf ihren Ff-Gehalt untersuchen und zahlenmäßig belegen. Die Methode ist außerordentlich einfach und bequem und erfordert keine besonderen apparatlichen Vorkehrungen.

III. Quantitative Bestimmung des Fibrinogens.[1]

Diese Methode beansprucht zu ihrer Ausführung zwei Lösungen: 1. eine Fibrinogenlösung der Blutart, in welcher der Fibrinogengehalt bestimmt werden soll und 2. eine gut wirksame Fibrinfermentlösung. Letztere kann man sich jederzeit herstellen, indem man einem Tier Blut entnimmt, es durch Schlagen defibriniert und sofort zentrifugiert; das Serum ist dann sofort für den Versuch zu verwenden. — Die Fibrinogenlösung stelle ich mir aus dem zu untersuchenden Blute so her, daß ich 3 cm^3 desselben frisch aus der Ader entnehme, mit 1 cm^3 der bereits oben angegebenen Magnesiumsulfatlösung mische und sofort zentrifugiere. Das auf diese Weise gewonnene Plasma enthält die in dem entnommenen Quantum Blut vorhandene gesamte Fibrinogenmenge. Alsdann verfährt man folgendermaßen:

Eine Reihe von Reagenzgläsern wird mit absteigenden Mengen der Fibrinogenlösung (Plasma) beschickt und zu jedem Gläschen je 1 cm^3 einer 10fach verdünnten Fibrinfermentlösung (Serum) zugefügt. Alsdann kommen sämtliche Gläschen, nachdem sie gründlichst durchgeschüttelt sind, in den Eisschrank und bleiben dort 24 Stunden. Während dieser Zeit geht in den Gläschen unter dem Einfluß des Fibrinfermentes die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin vor sich. Man nimmt die Gläschen heraus und stellt durch Neigen eines jeden, wobei ein Schütteln vermieden werden muß, fest, wo Gerinnung eingetreten und wo sie ausgeblieben ist. In der Regel beobachtet man in den ersten zwei Gläschen der Reihe, die am meisten Plasma enthalten, keine Gerinnung, aus dem einfachen Grunde, weil die Menge des in den Gläschen gleichzeitig vorhandenen Magnesiumsulfates den Eintritt der Fibrinbildung verhindert. Die nächsten Gläschen zeigen, sofern es sich um Blut vom normalen Tier handelt, eine komplette Gerinnung, dann folgen solche mit einer partiellen oder geringen Gerinnung und endlich Gläschen, die keine Spur eines Gerinnsels aufzuweisen haben. Es präsentiert sich demnach eine solche Versuchsreihe folgendermaßen:

Plasmamenge	Fibrinferment-lösung (1:10)	Nach 24stündigem Aufenthalt im Eisschrank
1 = 1·0	1·0 cm^3	—
2 = 0·5	1·0 „	—
3 = 0·25	1·0 „	fast komplett
4 = 0·125	1·0 „	komplett
5 = 0·062	1·0 „	„
6 = 0·032	1·0 „	partiell
7 = 0·016	1·0 „	etwas
8 = 0·008	1·0 „	—
9 = 0·004	1·0 „	—

Die Berechnung des Fibrinogengehaltes in dem untersuchten Plasma wird in ganz analoger Weise durchgeführt wie die Berechnung

[1]) *J. Wohlgemuth*, l. c. S. 81.

des Fibrinfermentes. Als Fibrinogeneinheit setze ich diejenige Menge Plasma, die noch gerade ausreicht, um in Gegenwart eines Überschusses von Fibrinferment ein deutlich erkennbares Gerinnsel zu liefern. In dem mitgeteilten Versuch wäre es die im Gläschen 7 enthaltene Plasmamenge 0·016. Folglich sind in 1 *cm*³ Plasma $= \frac{1}{0{\cdot}016} = 62{\cdot}5$ Fibrinogeneinheiten enthalten. Der Abkürzung halber bezeichne ich mit Fg den Fibrinogengehalt von 1 *cm*³ Magnesiumsulfatplasma; es ergibt sich demnach für den vorliegenden Fall der Wert Fg = 62·5. Eigentlich müßte man noch den Wert auf unverdünntes Plasma umrechnen; da aber die Verdünnung mit Magnesiumsulfatlösung immer die gleiche bleibt, erachte ich eine solche Umrechnung für überflüssig.

Auch diese Methode ist wie die Bestimmung des Fibrinfermentes eine sehr einfache und läßt sich ohne Schwierigkeiten durchführen.

Die Kapillarisation zur Unterstützung mikrochemischer Arbeiten.

Von **J. Grüß**, Berlin.

In der Chemie der Zelle bietet die Identifizierung der festen Bestandteile im allgemeinen wenige Schwierigkeiten. Fette, Proteinkörper und unlösliche Kohlenhydrate lassen sich mit den bekannten Reagenzien unter dem Mikroskop leicht erkennen. Von den mikrochemischen Reaktionen, die man zur Substanzermittlung unternimmt, gibt es allerdings nur wenige, welche man direkt, d. h. ohne weitere Vorbereitung ausführen kann. In dieser Hinsicht steht die Jodstärkereaktion an erster Stelle; denn ein wenig Jodlösung zeigt in einem mikroskopischen Schnitt sofort die Stärke an, und kein anderer Körper liefert mit Jod eine ähnliche Färbung.

Die ungelösten Proteinstoffe lassen sich durch eine ganze Reihe von Reagentien nachweisen; doch darf man sich nicht auf eine Reaktion beschränken, da bisweilen die hervorgerufenen Färbungen, wie z. B. die Tyrosinfärbung, nach Zusatz von *Millons* Reagens nicht sehr deutlich erscheinen.

Einzelne Reaktionen können sogar da ganz ausbleiben, wo man sie sonst erwartet; so verhält es sich z. B. mit der Biuretreaktion, die *H. T. Brown* an pflanzlichen Albumosen aus Malz nicht eintreten sah. Die Nuancen der Färbung können außerdem sehr verschieden ausfallen oder durch Färbungen anderer Art verdeckt werden. Gegen die festen Kohlenhydrate und Fette lassen sich die unlöslichen Proteinstoffe am einfachsten durch Molybdänblau unterscheiden.

Die Reagenslösung stellt man dar, indem man molybdänsaures Ammonium in Lösung bringt und in diese Zinkstaub und Metaphosphorsäure hinzugibt (Acidum phosphoricum glaciale d. Ph.). Die dunkelblaue Lösung ist zu filtrieren, hält sich aber nicht lange, weshalb man sie vor jedem Gebrauch am besten neu herstellt.

Nicht so einfach bleibt die Untersuchung, wenn es sich darum handelt, einzelne Bestandteile näher zu bestimmen. Als Beispiel mögen die Zellulosen angeführt sein, die man in einzelnen Fällen ziemlich lange in verdünnter Salzsäure erhitzen muß, um die blaue oder violettblaue Färbung mittelst Chlorzinkjod zu erhalten. Bekanntlich werden durch diese Behandlung die Hemizellulosen hydrolytisch herausgelöst.

Durch partielle Lösung sucht man ferner die Struktur der Zellkerne zu ermitteln, indem man die umhüllenden Eiweißstoffe durch Pepsinsalzsäure entfernt und den übrigbleibenden Kern mit Jodgrün färbt.

Durchgehends schwieriger gestaltet sich die Analyse des Zellsafts, weil man sich in engen Grenzen halten muß, wenn die Reaktionen auf dem Objektträger auszuführen sind. Im allgemeinen ist man auf Färbungen und Erzeugung von Niederschlägen angewiesen.

Die Frage nach der Zusammensetzung des Zellsaftes allein würde schon wert sein, das mikrochemische Verfahren weiter auszubilden; doch noch wichtiger erscheint es uns, die Bestandteile des Zellsaftes und ihre Umsetzungen aus dem Grunde zu ermitteln, weil sich der physiologische Zustand der Zelle häufig ändert, bevor man dies an der Struktur des Kerns und des Protoplasmas erkennen kann.

Bringt man z. B. eine lagernde Hefezelle in Zuckerlösung, so vergeht die Vakuole, und das Plasma wird körnig. Damit hängt wohl zusammen, daß unter Schwinden der Oxydase — wenigstens unter scheinbarem Schwinden — andere Enzyme, Hydrogenase und Zymase, entstehen. Der entgegengesetzte Zustand, Abnahme dieser beiden Enzyme und Anwachsen oder Vorherrschen der Oxydase kann sich schon vor der Vakuolenbildung bemerkbar machen. Der Anstoß, welcher die Kette der Reaktionen auslöst, dürfte mithin im Zellsaft erfolgen. Für die Kohlensäureassimilation kann man dies wohl a priori annehmen.

Für viele Fälle ist das Material in genügender Menge gegeben, z. B. in Blutungssäften (Birke), Preßsäften (Zuckerrohr, Hefe) oder Milchsäften (Kokosnuß), so daß jeder chemische Untersuchungsgang beliebig durchgeführt werden kann; doch wird man in der Regel Vorversuche nicht unterlassen, da diese das Hauptverfahren oft ganz erheblich abkürzen können.

In die Reihe der Vorversuche, die in der analytischen Chemie angewandt werden, möchte ich die Kapillarisationsmethode eingestellt wissen, welche ich in der Pflanzenphysiologie bei der Untersuchung von Zellsäften befolgt habe. Inwiefern diese Methode auch bei chemischen Vorarbeiten von Nutzen sein kann, soll in dieser Schrift an einigen Beispielen erläutert werden.

Auf die Theorie der Kapillarerscheinungen gehe ich hier nicht näher ein, in bezug darauf sei auf das Werk von *Goppelsroeder* verwiesen, in dem die physikalischen Gesetze sowie die Geschichte ausführlich behandelt werden.

In der analytischen Mikrochemie wird man die Kapillarisationsmethode besonders dann anwenden, wenn nur geringe Mengen der zu untersuchenden Substanz zur Verfügung stehen, die man der Einwirkung mehrerer Reagentien unterwerfen will. Handelt es sich dabei um ein Gemenge verschiedenartiger Stoffe, so sucht man durch Einschaltung von Hindernissen die kapillare Bewegung partiell zu unterbrechen. Die Lösung der übrigen Körper breitet sich weiter aus, und man erreicht oft, daß sich in der Randzone, wenn die kapillare Bewegung aufgehört hat, ein

Körper oder wenigstens eine geringere Anzahl derselben angehäuft hat, die man dann mit den verschiedenen Reagentien in Berührung bringen kann.

Am bequemsten ist es immer, wenn farbenerzeugende Reaktionen zu Gebote stehen; doch habe ich auch in Fällen, wo diese fehlten, die Kapillarisationsmethode anwenden können. Man hat dann die einzelnen Zonen auszuschneiden und auszulaugen. Die dadurch erhaltenen Lösungen kann man mikrochemisch nach *Behrens* untersuchen, oder bei Enzymuntersuchungen auch makrochemisch, indem man die enzymatische Wirkungsdauer verlängert. Auf diese Weise ließ sich z. B. eine Oxydaselösung durch Auslaugung mehrerer Randzonen mit Umgehung der Alkoholfällung erhalten.

Die erste und zweite Kapillarisation.

Bringt man irgend eine Lösung zur Kapillarisation, so erhält man eine feuchte Fläche von einer gewissen Ausdehnung. Unter der „zweiten Kapillarisation" verstehe ich, wenn man die einzelnen Zonen aus dem primären Felde herausschneidet, sie mit wenig Wasser anfeuchtet und die Lösung aus der Faser heraus abermals kapillarisieren läßt. Dies kann auch in der Weise geschehen, daß man die Streifen auslaugt und die Lösung im Vakuum bis zur geeigneten Konzentration eindunsten läßt.

Ist die Lösung nicht zu verdünnt, so läßt sich das Verfahren noch abkürzen: man zerfasert die Streifen unter Anfeuchtung und ballt die Fasern zu einem kleinen Preßkegel zusammen. (Um diesen zu formen, kann man einen kleinen Glastrichter benutzen.) Aus diesem Preßkegel, den man auf ausgespanntes Filtrierpapier setzt, wird die Lösung durch einige auf die Spitze geträufelte Wassertropfen herausgetrieben, so daß sie von der Unterlage aufgenommen wird. Hier bildet sich dann das zweite Kapillarisationsfeld aus.

Bevor ich auf die einzelnen Ausführungen des Verfahrens eingehe, möchte ich hier als Beispiel einen Fall anführen, in welchem diese Kapillarisationsmethode die denkbar besten Dienste geleistet hat.

Es handelt sich um den Nachweis der Enzyme in der Aleuronschicht der Gerste. Diese Haut, welche den Mehlkörper einschließt, muß man mühsam aus einem Gerstenkorn herauspräparieren, und man kann also unmöglich mit großen Quantitäten nach der Methode von *Bach* und *Chodat* arbeiten. Mikrochemisch läßt sich zunächst eine Oxydase folgendermaßen nachweisen: man bringt dünnes Filtrierpapier auf einen Objektträger und feuchtet es mit einer verdünnten Lösung von Tetramethylparaphenylendiaminchlorid (Violamin genannt) an, darauf legt man dünne Schnitte durch die Aleuronschicht. Bei schwacher Vergrößerung (90fach) kann man unter dem Mikroskop erkennen, daß einzelne Zellen sich lebhaft violett, andere nur schwach und ein Teil gar nicht färben.

Als ich die gleiche Färbung an der Hefezelle beobachtete und diese Erscheinung als eine Oxydasewirkung erklärte, wurde mir der Einwand

gemacht, daß es sich hierbei womöglich um keine Enzymreaktion, vielleicht aber um eine Wirkung des lebenden Plasmas handelte. Dies war leicht zu widerlegen, als ich mit Hilfe der Kapillarisationsmethode aus dem Gewebe oder den zerriebenen Hefezellen den Zellsaft entfernen und in ihm den die Oxydation bewirkenden Körper nachweisen konnte.

Außerdem fand sich bei dieser kapillaranalytischen Untersuchung noch eine Antioxydase mit reduzierenden Eigenschaften, so daß sich die vorher erwähnte Erscheinung der Aleuronzellen mit ihrer ungleichmäßigen Verfärbung leicht erklären ließ. Je nach ihrem physiologischen Zustande, in welchem die Zellen die hydrolysierenden Enzyme — Diastase und Phytotrypsin — zu erzeugen haben, bewegen sich die Atmungsenzyme — Oxydase und Antioxydase — um einen Gleichgewichtszustand, so daß bald die Oxydase, bald die reduzierend wirkende Antioxydase vorherrscht.

Vorbereitung und Ausführung der Kapillarisation.

Um das Filtrierpapier in passender Größe für eine zu kapillarisierende Masse auszuspannen, hält man sich verschiedene Messingreifen von 4 *cm* Höhe und 10, 15, 20 und 25 *cm* Durchmesser vorrätig. Ein solcher Ring wird mit einem kreisförmig ausgeschnittenen Filtrierpapier überdeckt und ein zweiter Messingreifen, der ein wenig größer ist, wird dann herübergestreift, so daß also der Kapillarisator das Ansehen einer Trommel hat.

Die Kapillarisatoren kann man in einer Kristallisationsschale aufeinander stellen, in die man das Antiseptikum (Toluol, Thymol, Chloroform etc.) bringt. Diese Tragschale befindet sich in einer zweiten, in welcher die abschließende, tubulierte Glasglocke steht, und deren Boden mit Wasser bedeckt ist. Durch den Tubus leitet man, wenn es sich um leicht oxydierbare Substanzen handelt, einen langsamen Strom gereinigten Wasserstoffs, der mit Wasserdampf gesättigt ist.

Die Ausführung der Kapillarisation richtet sich je nach dem Zweck, den man verfolgt. Wenn wir das vorher erwähnte Beispiel beibehalten, so würde sich unter der Voraussetzung, daß wir den Nachweis von Diastase, Oxydase und Antioxydase nebeneinander führen wollen, der Untersuchungsgang folgendermaßen gestalten:

Wir präparieren aus 50 gekeimten Gerstenkörnern die Aleuronschichten heraus, zerreiben sie nach dem Abspülen mit dem doppelten Gewicht Wasser und einigen Körnchen Quarzsand. Das Filter, welches wir zur Kapillarisation benutzen, tränken wir mit einer $^1/_2$ $^0/_0$igen Lösung von löslicher Stärke und lassen es trocknen. Auf dem im Kapillarisator ausgespannten Stärkepapier stellen wir zunächst einen Wasserring her. Dazu bewegen wir eine kleine Pipette mit 0·2 *cm*³ Wasser im Kreise herum, während wir dasselbe langsam ausfließen lassen, so daß also eine wasserhaltige, ringförmige Zone entsteht, deren inneres, trocknes Mittelfeld 1—2 *cm* Durchmesser besitzt.

Auf dieses bringen wir die mit etwas Thymol versetzte, zerriebene Masse der Aleuronzellen. Der Kapillarisator befindet sich nun in einer Glasglocke, durch deren Tubus man einen langsamen Strom von feuchtem Wasserstoff leitet. Es genügt, diesen durch angewärmtes Wasser hindurchgehen zu lassen. Bei hinreichender Substanz wird man mehrere Kapillarisatoren beschicken, die man dann aufeinander setzt.

Nach 24 Stunden hat sich ein Kapillarisationsfeld ausgebildet, aus dem man einen Sektor herausschneidet; diesen hält man zum Nachweis der Diastase über Joddampf. Da, wo die Färbung ausbleibt, ist die Stärke hydrolytisch verändert worden.

Ein zweiter Sektor wird in eine alkoholische Guajaklösung getaucht und nach Abdunsten des Alkohols auf eine Unterlage aus Fließpapier gleichmäßig angedrückt, welches mit einer verdünnten Lösung von Wasserstoffsuperoxyd angefeuchtet ist. Die dadurch entstandene dunkelblaue Färbung reicht so weit als die Stärke gelöst ist; doch greift noch eine zweite hellblaue Randzone darüber hinaus, in der die Oxydase zu suchen ist.

Einen dritten Sektor bringen wir auf Fließpapier, das mit Violaminlösung (Tetramethylparaphenylendiaminchlorid) angefeuchtet ist. Die Randzone wird an der Luft violett gefärbt, enthält mithin Oxydase. Da gleichzeitig innerhalb der Randzone noch eine Aufhellung zu bemerken ist, wird man die Anwesenheit einer Antioxydase noch durch andere Reaktionen bestätigen.

Ein vierter Sektor wird mit einer Lösung von Ursoltartrat (Paraphenylendiamintartrat), die mit etwas Wasserstoffsuperoxyd versetzt ist, angefeuchtet. Dies führt man am besten in der Weise aus, daß man Fließpapier mit der Lösung benetzt, dasselbe auf eine Glasscheibe legt und den ausgeschnittenen Sektor mittelst einer zweiten Platte darauf andrückt. Die hervorgerufene schiefergraue Färbung stimmt im allgemeinen mit der Guajakfärbung überein; nur da, wo Antioxydase ist, bleibt das Papier weiß, während es sich außerhalb des Kapillarisationsfeldes infolge von Antioxydase langsam gelbbraun färbt.

Durch eine entgegengesetzte Reaktion kann man das Resultat kontrollieren:

Man feuchtet einen anderen Sektor mit einer Lösung von Carminsäure an, die man mit Soda oder Li_2CO_3 schwach übersättigt und bringt ihn auf ein mit verdünntem Wasserstoffsuperoxyd angefeuchtetes Fließpapier. Man stellt die Farblösung mit dem H_2O_2 so aufeinander ein, daß die Entfärbung allmählich erfolgt.

Diejenige Zone des Kapillarisationsfeldes, welche Antioxydase enthält, muß die rote Färbung am längsten aufbewahren.

Auf diese Weise lassen sich noch beliebige andere Reaktionen einführen; z. B. kann man einen Sektor auf eine Unterlage bringen, die mit einer Lösung von Eisenoxydsulfat angefeuchtet ist, um auf Gerbstoffe zu

prüfen. Ferner lassen sich mit anderen Sektoren die Biuret- und die Tyrosinreaktion ausführen.

Fügt man die einzelnen Sektoren wieder zusammen, so erhält man ein Chromogramm, durch das man den Zustand des Zellsaftes fixiert hat. Wiederholt man das gesamte Verfahren mit dem Zellgewebe in einem späteren Stadium des Wachstums, so kann man durch Vergleich die eingetretenen Veränderungen feststellen.

Sicherlich dürfte sich diese Methode auch in der Tierphysiologie vorteilhaft verwenden lassen, wenn es sich darum handelt, die Umwandlungen der Zellsäfte in einer krankhaft veränderten Gewebeschicht zu verfolgen.

Aus der Verteilung der Körper in dem Chromogramm läßt sich ferner auf die Wanderungsfähigkeit dieser Substanzen im Gewebe schließen.

Hat ein Stoff nach der Kapillarisation in einem Chromogramm eine gewisse Zone ausgebildet, so muß diese verstärkt werden, wenn man den Versuch in der Weise wiederholt, daß man zu der angewandten Lösung eine geringe Menge jenes Stoffes hinzugefügt hat. So ließ sich z. B. zeigen, daß eine Oxydase mit gewissen anderen Körpern (Brenzkatechin), welche ähnliche Eigenschaften haben, in der Kapillarisationsfähigkeit nicht übereinstimmte, mithin substanziell verschieden von ihnen war. Andererseits kapillarisierte eine aus Malz hergestellte Sekretdiastase in ganz gleicher Weise wie die in der Rinde der Kartoffelknolle auftretende Diastase, und da beide auch andere Eigenschaften gemeinsam hatten, dürfte es sich wohl um einen und denselben Körper handeln.

Die Ausführung der Kapillarversuche läßt sich am besten mit Hilfe von Farbstoffen zeigen. Wir wählen dazu Triazid, eine im Handel zu erhaltende, violette Farblösung, mit der die Versuche auf dreierlei Art angestellt werden können:

1. Auf die Mitte des ausgespannten Papiers läßt man einen Tropfen Triazidlösung auffallen und bringt dann den so vorbereiteten Kapillarisator in einen trockenen Raum. Ist die Bewegung zu Ende gekommen, so hat man ein zentrales, blauviolettes Feld mit einem Durchmesser von 20 bis 22 *mm*, welches von einer etwa 1 *mm* breiten roten Randzone umgeben ist. Das Rot enthält immer noch einen Stich ins Blaue.

2. Mittelst einer kleinen Pipette bringt man auf das ausgespannte Papier einen Wasserring, indem man die Spitze der Pipette aufsetzt und das Wasser langsam ausfließen läßt, während man die Pipette im Kreise bewegt. Fällt nun ein Tropfen Triazidlösung in die trockne Mitte auf, so breitet er sich alsbald aus, und die rote Randzone wird auf den Wasserring stoßen. Diesen Vorgang läßt man in einem mit Wasserdampf erfüllten Raume vor sich gehen.

Das Resultat ist später folgendes: Das blaue Mittelfeld hat einen Durchmesser von 20—22 *cm*, dagegen ist die rote Randzone 10—12 *mm* breit. Der Rand des Kapillarisationsfeldes ist in diesem Falle nicht scharf, sondern verwaschen.

3. Man mischt 1 cm^3 Triacidlösung mit 1 cm^3 Glyzerin und gibt von dieser Mischung einen Tropfen in die Mitte des Wasserringes; auch dieser Vorgang erfolgt in einem mit Wasserdampf gesättigten Raum.

Unter diesen Bedingungen bildet sich ein zentrales blaues Mittelfeld von 20—22 *mm* Durchmesser, die rote Randzone wird **16—17** ***mm*** breit. Bemerkenswert ist hier die Verteilung des roten Farbstoffes: das blaue Mittelfeld wird von einer etwa 7—8 *mm* breiten, nach außen mit geringerer Intensität erscheinenden Zone umschlossen, welche von einer zweiten fast farblosen und etwa 6 *mm* breiten umgeben ist. Dann folgt als Grenze des Kapillarisationsfeldes eine etwa 3 *mm* breite Randzone, die intensiver gefärbt ist und sich gut abhebt.

Die erste Methode werden wir anwenden, um Säfte in der Papierfaser zu konzentrieren. Man braucht dann nur den Rand auszuschneiden, das Papier zu zerfasern und mit einem Tropfen Wasser anzufeuchten. Bringt man dann die Masse zur zweiten Kapillarisation in den Wasserring, so kann man in den meisten Fällen eine vollständige Trennung der Stoffe erreichen. Die zweite und dritte Methode ist von vornherein anzuwenden, wenn es sich darum handelt, kolloidartige Substanzen zu kapillarisieren; auch dann hat man häufig zur zweiten Kapillarisation wie vorher zu schreiten.

Läßt man die Kapillarisation im Wasserring vor sich gehen, so wird die Trennung nicht allein durch die Kapillarattraktion bewirkt, sondern es kommen hier noch Diffusionskräfte in Betracht, deren Wirkung noch verstärkt wird, wenn die Lösung Glyzerin enthält.

Dieses Verfahren läßt sich mit großem Vorteil zur Unterstützung der mikrochemischen Untersuchung da besonders anwenden, wenn die zur Verfügung stehende Substanzmenge für eine Analyse in vitro zu gering ist; denn die Fällungsmethode, besonders die mit Alkohol, zum Zweck der Trennung der Stoffe erfordert viel Material.

Zum Beispiel findet sich in den Oberhautzellen des Blumenblattes von Petunia variabilis ein Farbstoff, dessen Natur zu untersuchen ist. Unter dem Mikroskop kann man diese Zellen durch Essigsäure rot und durch Kalilauge grün färben. Um ein hinreichend großes Kapillarisationsfeld zu erhalten, genügt ein Blumenblatt. Man zerreibt es mit etwas Quarz und halbverdünntem Glyzerin und bringt die violette Masse im feuchten Raum und im Wasserring zur Kapillarisation.

Da ein gelber Farbstoff bald die äußere Zone einnimmt, entfernen wir nach 24 Stunden die Masse aus der Mitte und setzen auf diese einige Tropfen Wasser nacheinander auf. Ich habe diesen Vorgang als innere Auswaschung bezeichnet; denn der gelbe Farbstoff wird dadurch schneller nach außen gespült als der violette. Wir schneiden schließlich das innere Kapillarisationsfeld aus, zerfasern das Papier, feuchten es an und kapillarisieren damit zum zweitenmal. Setzt man in die Mitte dieses zweiten Feldes einen Tropfen verdünnter Kalilauge, so wird der noch restierende gelbe Farbstoff nach außen gedrängt, während der violette

blau gefärbt wird und sich gleichfalls, jedoch langsamer in einer nach außen rückenden Zone ansammelt.

Die unter dem Mikroskop zu beobachtende grüne Färbung ist also durch Mischung zweier Komplementärfarben entstanden. Da ferner die blaue Zone durch Essigsäure rot wird, so ist der violette Farbstoff nicht wie das Triazid ein Gemenge, sondern ein einzelner Körper.

Es ist ersichtlich, daß dieses Verfahren für eine analytische Untersuchung auch von anderen Substanzen nutzbringend sein kann. Bei der Kapillarisation eines Zellsaftes, in welchem ein Enzym und sein Gegenenzym im Gleichgewicht zueinander stehen, erhält man häufig in der inneren und äußeren Zone getrennt die beiden antipodischen Körper, die man durch Auslaugung gewinnen oder durch Farbenreaktionen in der Faser nachweisen kann. Auf diese Weise gelang es z. B. die Amylokoagulase in der äußersten Zone aufzufinden, als der Zellsaft aus dem embryonalen Gewebe des Gerstenkeimlings kapillarisiert wurde.

Wendet man ein Gemisch von drei Farbstoffen an, z. B. von Rose bengale, Smaragdgrün und Fluoreszin, so färben diese ein Papierscheibchen bräunlichrot; können sie sich ausbreiten, so erhält man ein rotes, am Rande strahlig ausgezacktes Feld, welches von einer grünen Zone umgeben ist. Diese wird von einer gelben umringt. Nur die äußerste Randzone enthält einen einheitlichen Körper, und zwar in diesem Fall Fluoreszin; der rote Farbstoff läßt sich deutlicher erkennen als im Gemisch, wo er braunrot erscheint; denn es sind ja die beiden anderen Farben zum größeren Teil wenigstens herausgenommen.

Läßt man einen Tropfen eines Farbstoffgemisches auf angefeuchtetes Fließpapier auffallen und die Ausbreitung im dampfgesättigten Raum vor sich gehen, so werden die einzelnen Zonen größer. Zum Beispiel breitete sich unter dieser Bedingung ein Tropfen Eosin-Methylenblaumischung aus und ergab eine Kreisfläche mit dem Durchmesser 4·5 *cm*; die äußerste, nur Eosin enthaltende Zone war 2 *mm* breit.

Von besonderem Vorteil ist es, wenn man in einem Gemisch von Stoffen, welches man kapillaranalytisch untersuchen will, die Beweglichkeit des einen oder anderen Körpers verringern oder auch durch chemische Bindung gänzlich aufheben kann. Während die kapillare Bewegung vor sich geht, läßt sich das Gemenge leicht in Essigsäuredampf ansäuern oder in Ammoniakgas alkalisch machen. Dadurch entstehen bisweilen Niederschläge, welche zurückbleiben, wogegen die Flüssigkeit durch nachfolgende Wassertropfen weiter herausgetrieben wird.

Nach diesen allgemeinen Angaben kann der spezielle Untersuchungsgang am besten durch ein Beispiel skizziert werden. Wir wählen dazu den jungen Trieb von Pteris aquilina, dessen Querschnitt sich nach Befeuchtung mit Guajaklösung blau färbt. Auf mikroskopischen Schnitten ist zu sehen, daß die Oxydase hauptsächlich in der Rinde, wo der Sauerstoff am leichtesten hinzutreten kann, ihren Sitz hat. Außerdem bemerkt man einen braunen Farbstoff, der teilweise im Zellsaft gelöst ist, teilweise an

protoplasmatische Körnchen gebunden sich vorfindet. Die Färbung der Gefäße, der Schutzscheide und der braunen Härchen, mit denen die Haut bedeckt ist, kann auf die Wirkung dieser Oxydase zurückgeführt werden.

Das Enzym wirkt am besten in alkalischer Lösung. Man bereitet daher die Versuchslösung, indem man die zerschnittenen Endknospen der jungen Triebe mit einer verdünnten Natronlauge (0·1%) zerreibt und auslaugt.

An der Luft, nicht aber unter Wasserstoff wird dieser alkalische Extrakt bald braun. Einmaliges kurzes Aufkochen zerstört, wie es scheint, diese Oxydase nicht ganz, denn nach längerer Zeit bemerkt man gleichfalls an der Luft die Verfärbung.

Zunächst suchen wir in dem einfachen (nicht alkalisch gemachten) Preßsaft das Enzym zu bestimmen. Man bringt einige Tropfen des unter Druck filtrierten, mit Thymolwasser verdünnten Preßsaftes auf den Kapillarisator und behandelt das Feld mit Guajak + H_2O_2: es wird blau mit einer stärker gefärbten Mittelfläche, umgeben von einer weißen Zone, die von einer intensiv blauen Randlinie begrenzt wird. Diese ungefärbte, weißbleibende Randzone enthält eine Antioxydase: denn untersucht man ein Kapillarisationsfeld mit Ursoltartratlösung + H_2O_2, so erhält man eine weiße Kreisfläche mit schwach dunkler, schieferfarbiger Randlinie, während außerhalb derselben die gelbbraune Färbung der Autoxydation erscheint.

Verwendet man zur Kapillarisation einen an der Luft dunkel gewordenen Extrakt, so ist nicht schwer zu sehen, daß der braune Farbstoff gleichfalls bis in die äußerste Randlinie vorgerückt ist, woraus man schließen kann, daß sich die Oxydase durch Autoxydation selbst verfärbt oder aber, daß sich Oxydase und Farbstoff in einer Bindung vorfinden, die durch eine einfache Kapillarisation nicht getrennt werden kann.

Der anatomische Befund paßt für beide Schlußfolgerungen: denn z. B. die Gefäßwandungen sind braun gefärbt und enthalten gleichzeitig das oxydierende Enzym, ebenso die Schutzscheide: man legt zum Nachweis die betreffenden Schnitte auf Filtrierpapier, welches mit schwach alkalisch gemachter Violaminlösung[1]) getränkt worden war.

Das Leptom der Gefäßbündel bleibt bei der Einwirkung des Sauerstoffs ungefärbt, und die violette Färbung schwindet hier, während sie im Gefäßteil meist erhalten bleibt und intensiver wird: es ist also im Leptom eine Antioxydase mit reduzierenden Eigenschaften vorhanden.

Um die Frage zu entscheiden, bringen wir den schwach alkalisch gemachten Pflanzenextrakt, der mehrere Stunden an der Luft gestanden hat und braun geworden ist, auf den Kapillarisator und das sich bildende Feld, bevor es seine endgültige Ausdehnung erlangt hat, in Essigsäuredampf. Dadurch tritt eine Fällung des Farbstoffes ein, und die oxydierenden Enzyme kapillarisieren über die Farbstoffgrenze hinaus.

Nachdem die Bewegung zu Ende gekommen ist, muß man mit gasförmigem Ammoniak die Essigsäure fortnehmen und kann dann mit den entsprechenden Reagentien Oxydase resp. Peroxydase leicht nachweisen.

[1]) Tetramethylparaphenylendiaminchlorid.

Es gelingt ferner, aus dem Extrakt mit Tierkohle den Farbstoff gänzlich herauszunehmen, wodurch eine völlig farblose Lösung hergestellt wird, in der mit Guajak und Wasserstoffsuperoxyd eine wenn auch schwache Bläuung eintritt.

Teilweise gehen die Enzyme in die Kohle über, und aus derselben lassen sie sich gleichzeitig mit dem Farbstoff durch verdünnte Natronlauge wieder ausziehen.

Wird dieser Extrakt im Wasserring kapillarisiert, so läßt sich ein Feld erhalten, in welchem das oxydierende Enzym aufgefunden werden kann. Das Chromogramm zeigt nun im Vergleich zu dem vorhergehenden mehr Farbstoff und weniger Enzym an. Daraus folgt, daß die Essigsäure nicht etwa spaltend auf eine chemische Verbindung, auf eine Oxydase, einwirkt. Das Enzym ist in diesem Falle mit seinem Substrat durch Adsorption so verbunden, daß beide durch einfache Kapillarisation nicht getrennt werden können.

Die Tennung gelingt schließlich durch wiederholte feuchte Kapillarisation; doch ist dieses Verfahren immerhin umständlich.

Mikroskopische Schnitte geben mit der Violamin- resp. mit der Guajakwasserstoffsuperoxydreaktion nicht immer das gleiche Bild. Das gebildete Violett resp. Blau wird teilweise wieder reduziert und dadurch mißfarbig. Diese Veränderung kann auch an dem braunen Farbstoff selbst beobachtet werden; sie hängt ab von dem Vorherrschen des oxydierenden Enzyms oder der erwähnten Antioxydase.

Daß die im Gewebe vorhandenen Farbstoffe dieser Veränderung leicht unterliegen, kann auf folgende Weise demonstriert werden: Läßt man den alkalischen Pflanzenextrakt teilweise unter Wasserstoff und an der Luft stehen, so wird intermediär ein roter Farbstoff gebildet, welchen man kapillaranalytisch leicht von dem braunen trennen kann.

Fällt man dieses Farbstoffgemisch mit Essigsäure und löst den ausgewaschenen Niederschlag wieder mit Kalilauge auf, so erhält man eine rotbraune Lösung, in der man durch Sauerstoff in stat. nasc. — z. B. durch $H_2O_2 + BaO_2$ — die Farbstoffe völlig oxydieren und in eine gelb gefärbte Verbindung überführen kann. Durch Wasserstoff in stat. nasc. werden die dunklen Farbstoffe gänzlich in die Leukoverbindung verwandelt; zu dieser Verwandlung kann man Natriumamalgam verwenden.

Das Chromogramm mit den diese Umwandlungen bewirkenden Enzymen läßt sich auch so herstellen, daß die violette Oxydasefärbung die Mitte einnimmt, welche dann von einer hellen Entfärbungszone umringt ist; die Grenzlinie wird von den Farbstoffen gebildet. Diese Darstellung beruht darauf, daß man die Versuchslösung fortgesetzt und mit Unterbrechungen auf die Mitte aufträufeln, und wenn das Feld genügend angereichert ist, Wassertropfen nachfolgen läßt, wodurch hauptsächlich Antioxydase nach außen gespült wird, während die Oxydase mehr zurückbleibt.

Außer durch Dämpfe, welche man während der Kapillarisation einwirken lassen kann, gibt es nur noch ein Mittel der partiellen Abscheidung: das ist die Kapillarisation auf infiltriertem Papier.

Man kann auf dem Kapillarisator ein Filtrierpapier ausspannen, welches man je nach der Natur des abzuscheidenden Körpers mit der nicht zu sehr konzentrierten Lösung des Adsorptionsmittels durchtränkt hat. Es ist untunlich, die Konzentration dieser Lösung über 1% zu nehmen, da sonst die Kapillarisation recht erschwert wird. Zur Vermeidung von Faltenbildung spannt man das Papier feucht aus und trocknet es dann.

Zu diesem Zwecke eignen sich Lösungen von essigsaurer Tonerde oder Kalkwasser — jene, um z. B. Eiweißstoffe aus einer Zuckerlösung abzuscheiden, dieses, um Säuren zu binden.

Beispielsweise wird man, um eine Lösung von Kupfer- und Eisensalzen zu kapillarisieren, das Fließpapier mit Ammoniumkarbonat infiltrieren. Läßt man 1–2 Tropfen auffallen, so wird das Eisen ausgeschaltet, und durch nachfolgende Aufträuflung von Ammoniakflüssigkeit kann man das Kupfer aus der Eisenzone herausspülen. Nach dem Trocknen säuert man mit Essigsäuredampf an und bringt die Farbenreaktion hervor, indem man das Kapillarisationsfeld auf eine Unterlage bringt, die mit einer Lösung von Kaliumferrocyanid angefeuchtet ist.

Ich schließe hier noch ein Beispiel an, das vielleicht für den anorganischen Chemiker Interesse haben könnte. Wir nehmen an, daß von einem schön ausgebildeten Mineral nur ein Splitter erhältlich ist, der auf Eisen, Nickel, Kobalt zu untersuchen ist und den wir mit einer geeigneten Säure aufschließen.

Trennung von Eisen, Nickel, Kobalt.

Die drei Metalle Fe, Ni, Co befinden sich als Chloride oder Sulfate in Lösung, die man möglichst konzentrieren kann, da nur ein Tropfen zur Untersuchung nötig ist. Diesen läßt man auf ausgespanntes Filtrierpapier fallen und verhindert seine Ausbreitung durch möglichst schnelle Abdunstung.

Nachdem das Wasser abgedunstet ist, setzt man einen Tropfen Ammoniak auf den dunklen Fleck und drängt so Nickel und Kobalt heraus, während das Eisen als Hydroxyd zurückbleibt. Auch hierbei wird man durch Erwärmen bewirken, daß die äußere Zone nicht zu breit wird (etwa 1 *cm*). Durch Wiederholung wird mindestens der größte Teil von Nickel- und Kobaltsalzen aus dem zentralen eisenhaltigen Feld herausgewaschen.

Auf die äußere Zone läßt man nun aus einer Pipette eine ammoniakalische Lösung von Kaliumnitrit ausfließen, indem man die Pipette im Kreise bewegt. Bei der dann folgenden Kapillarbewegung bleibt das Kobalt zurück, worauf man mit Essigsäuredampf die Fällung des Kalium-Kobaltnitrits bewirkt.

Nun läßt man um die Außenzone durch kreisförmig geführte Bewegung aus einer Pipette eine Lösung von Diacetyldioxim ausfließen, wodurch in der äußeren Zone der rote Nickelniederschlag entsteht.

Das Chromogramm besteht schließlich aus drei Zonen: die äußerste rote zeigt Nickel an, die mittlere Zone ist gelb und enthält das Kobalt, und in der innersten kann man nach Oxydation mit H_2O_2 den Eisenniederschlag mit Kaliumferrocyanid blau färben.

Beispiele für die Trennung organischer Körper.

In einer Lösung von Gerbsäure und Acetyldioxim lassen sich beide Körper durch einfachen Zusatz der betreffenden Reagentien nicht nachweisen: denn setzt man eine ammoniakalische Nickellösung hinzu, so wird die rote Färbung durch eine braune verdeckt.

Man läßt einige Tropfen der Versuchslösung im feuchten Raum kapillarisieren. Nach mehreren Stunden hat sich ein Feld ausgebildet, dessen Randzone die Acetyldioximlösung enthält, während die Gerbsäure etwas zurückgeblieben ist. Das Feld wird halbiert. Die eine Hälfte legt man auf Fließpapier, welches mit ammoniakalischer Nickellösung angefeuchtet ist: dadurch erscheint um ein braunes Mittelfeld die rote Randzone. Die andere Hälfte bringt man auf eine Unterlage, die mit Essigsäure und etwas Eisenoxydsulfatlösung getränkt ist. Das Mittelfeld erhält nun die charakteristische blauschwarze Färbung.

Ein Zellsaft enthalte Oxalsäure und Kaliumoxalat. Wir bringen die zerriebene Zellmasse auf erwärmtes Filtrierpapier, lassen trocknen und treiben durch tropfenweisen Zusatz von Alkohol die Oxalsäure heraus. Bei einiger Vorsicht kann man die Säure in einer schmalen kreisförmigen Zone anhäufen, die sich mit Lackmus auffinden läßt. Diese Randzone sowie das zentrale Feld schneidet man aus, feuchtet sie mit Wasser an und preßt auf einem kleinen Trichter die Lösungen ab. In ihnen kann nach *Behrends* Angaben[1]) Oxalsäure und Kaliumoxalat nachgewiesen werden.

Aufsuchen der maximalen Wirkung.

Wenn man Ausschnitte aus einem Kapillarisationsfelde mit einer Reagenslösung befeuchtet, wie z. B. bei der Peroxydasereaktion mit alkoholischer Guajaklösung, um sie dann auf eine mit einer zweiten Versuchslösung — also in diesem Falle mit H_2O_2 — getränkten Unterlage zu bringen, so kann die Wirkung je nach der Konzentration verschieden ausfallen. Man hat, wenn dies eintritt, die maximale Wirkung aufzusuchen.

Das Kapillarisationsfeld wird in eine Anzahl gleich großer Sektoren zerlegt, die zunächst mit der alkoholischen Guajaklösung in gleicher Weise angefeuchtet werden. Die aus Fließpapier bestehenden Unterlagen haben gleiche Größe wie die ausgeschnittenen Sektoren und enthalten die Lösungen von H_2O_2 in verschiedenen Konzentrationen.

Es ist selbstverständlich, daß man die Unterlagen mit gleichviel Flüssigkeit tränkt: man gibt etwa 0·1 oder 0·2 *cm*³ der verschiedenen Lösungen auf jede Papierfläche je nach ihrer Größe und bringt dann unter

[1]) Mikrochemische Analyse organischer Verbindungen. H. IV, pag. 39.

Druck mittelst einer Glasplatte die Sektoren mit ihnen in möglichst gleichmäßige Berührung. Aus der intensiven Färbung ist die günstigste Konzentration zu ersehen.

Operiert man mit Ursoltartrat, so stellt man sich eine 5%ige, bei stark wirkenden Enzymen auch höher zu nehmende Lösung mit wechselnden Mengen von H_2O_2 her, mit der man die Unterlagen beschickt.

Über den Nachweis von Zuckerarten im Gewebe.

Reduzierender Zucker ist im pflanzlichen Gewebe leicht nachzuweisen: man bringt die Schnitte in ein Uhrgläschen, übergießt sie mit kochender *Fehling*scher Lösung und läßt die Temperatur erst nach dem Farbenwechsel sinken. Darauf ersetzt man die Kupferlösung durch Wasser.

Die Pentosen lassen sich mikrochemisch nicht nachweisen; denn bei der Gummifizierung im Gewebe der Amygdalaceen, wo sie in Betracht kommen, geben ihre Muttersubstanzen, die betreffenden Hemizellulosen und deren Hydrolysationsderivate (z. B. Arabin) mit Phloroglucin und Salzsäure gleichfalls durch Furfurolbildung die rote Färbung. Hat man genügend Substanz, so läßt sich der Nachweis durch Kapillarisation führen. Ein Gummitröpfchen, dem etwas Arabinoselösung zugesetzt ist, läßt man auf dem ausgespannten Filtrierpapier nicht ganz eintrocknen. Durch Auftröpflung von 80%igem Alkohol kann dann der Zucker ausgetrieben werden. Nach Abdunstung des Alkohols halbiert man das Feld; die eine Hälfte wird in heiße *Fehling*sche Lösung gebracht, die andere auf eine mit Phloroglucin und Salzsäure getränkte Unterlage. Läßt sich auf diese Weise in der Randzone die Reduktion ausführen und erhält man gleichzeitig die Furfurolfärbung, so kann man annehmen, daß in dem Gummi eine Pentose vorkommt.

Der Rohrzucker läßt sich mikrochemisch im Gewebe nur annähernd nachweisen, zu welchem Zweck mindestens drei Schnitte nötig sind; den ersten bringt man in siedende *Fehling*sche Lösung, um die Anwesenheit des reduzierenden Zuckers festzustellen. Den zweiten erhitzt man mit einigen Tropfen Essigsäure ein paar Minuten am besten in Wasserdampf, neutralisiert und reduziert in gleicher Weise wie vorher.

Der dritte Schnitt muß kurz eine Temperatur von 100° passiert haben, worauf man ihn in eine genügende Menge Invertinlösung bringt und einige Stunden unter 30° antiseptisch liegen läßt; darauf reduziert man, wobei darauf zu achten ist, daß die Bedingungen des Erhitzens die gleichen wie vorher sind.

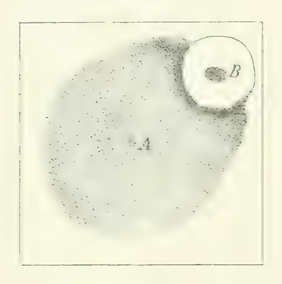
Was diese letztere Behandlung anbetrifft, so ist die voraufgehende Erwärmung auf 100° durchaus nötig, um etwa vorhandene Diastase zu zerstören. Außerdem sind zwei Nachteile zu berücksichtigen: das Invertin dringt in die Zellen nicht ein, und während der unter 30° gehaltenen Inversionszeit diffundiert der Rohrzucker zum Teil aus den Zellen heraus.

Man kann daher aus einem Vergleich der 3 Schnitte ein Bild erhalten, welches nur annähernd mit mehr oder weniger Genauigkeit je

nach der Geschicklichkeit des Experimentierenden — die Verteilung des Rohrzuckers im pflanzlichen Gewebe erkennen läßt.

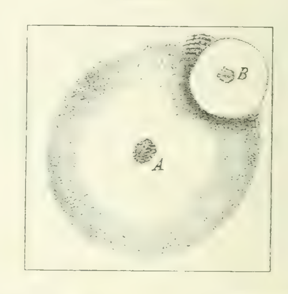
Es fiel mir auf, daß fast regelmäßig die Reduktion in den oberflächlichen Zellen erfolgte, und man ist daher im Zweifel, inwieweit Diffusionsvorgänge eingetreten sind. Nachdem mit Invertin eine Inversion ausgeführt ist, halte ich noch eine zweite, schneller erfolgende im Gewebe für notwendig. Man bringt die Schnitte auf ein Uhrgläschen, betupft sie mit Bromwasserstoffsäure (spez. Gew. 1·49), die man halb verdünnt hat, und bewahrt sie in einem feuchten Raum eine halbe Stunde bei 20° auf. Diese Inversionszeit läßt sich für Temperaturen von 25 und 30° entsprechend kürzen. Nach der Reduktion erschienen die Kupferoxydulkörnchen im Gewebe (Schnitt durch das Schildchen eines gekeimten Gerstenkorns).

Fig. 51.



Der Kreis um *A* wurde mit zweimal 0·1 *cm*³ einer Lösung hergestellt, die 0·5% Glukose, 0·5% Rohrzucker und 1% Albumin enthielt. Um *B* breitete sich ein Tröpfchen Invertinlösung aus. Die Schattierung gibt das nach der Reduktion gebildete Cu_2O wieder.

Fig. 52.



Der große Mittelkreis wurde mit dem Zellsaft von 15 Schildchen gekeimter Gerste hergestellt. Der kleine Kreis enthielt die Invertinlösung. Die Schattierung bedeutet das nach der Reduktion gebildete Cu_2O.

Kapillaranalytisch kann man vorgehen, wenn die Lösung ¹/₄—1% Saccharose enthält und wenn die Menge des Traubenzuckers nur wenig größer ist als die des Rohrzuckers. Dann genügen 0·2 *cm*³ Lösung.

Auf das ausgespannte Filtrierpapier des Kapillarisators läßt man zunächst 0·1 *cm*³ auftropfen, und wenn die Flüssigkeit zur Ruhe gekommen ist, setzt man noch einmal 0·1 *cm*³ hinzu. Um partiell zu invertieren, läßt man in der Nähe des Randes außerhalb des Feldes ein kleines Tröpfchen Invertinlösung ausfließen.

Die beiden sich berührenden Felder bleiben in der feuchten Kammer mehrere Stunden unter antiseptischen Bedingungen sich selbst überlassen, worauf man sie in kochende *Fehling*sche Lösung gibt. Nach der Reduktion gelangt das Papier in Wasser, und nach dem Trocknen erscheint an der Berührungsstelle der beiden Felder ein stärkerer Niederschlag. Auf diese Weise ist die nebenstehende Textfigur 51 erhalten worden. Die Versuchs-

lösung war folgendermaßen zusammengesetzt: 100 *cm*³ Wasser enthielt 0·5 *g* Glukose — 0·5 *g* Rohrzucker und 1 *g* Albumin. Von dieser Lösung wurden zweimal 0·1 *cm*³ auf *A* aufgetropft, während auf *B* ein Tröpfchen Invertinlösung gesetzt wurde. Die Albuminlösung hat hier nur den Zweck, die kapillare Ausbreitung zu verlangsamen.

Nach dieser Methode ist der Rohrzucker im Gramineenschildchen nachgewiesen. Siehe die nebenstehende Fig. 52. Auf die Mitte waren 15 mit ein wenig Glas und einigen Tropfen Wasser zerriebene Schildchen von keimender Gerste aufgelegt worden. Aus beiden Feldern ist ersichtlich, daß der Rohrzucker unter dieser Bedingung kaum merklich dem reduzierenden Zucker voraneilt. A priori wurde erwartet, daß der Unterschied einen größeren Betrag erreichen müßte; denn es war zu bedenken, daß der Zucker in der Form des Rohrzuckers im Gewebe wandert.

In Versuchen mit anderen Konzentrationen schien mir eher der reduzierende Zucker (Glukose) die Randzone einzunehmen und der Rohrzucker ein wenig zurück zu bleiben.

Der in Fig. 51 dargestellte, aus Cu_2O bestehende Kreis enthielt nach den vorstehenden Angaben 0·001 *g* Glykose und 0·001 *g* Rohrzucker. Ist die Lösung noch verdünnter, dann hat man 0·1 *cm*³ ausfließen und trocknen zu lassen, worauf noch ein- oder mehrmals diese Operation wiederholt wird, um auf diese Weise die zu invertierende und zu reduzierende Zuckermenge zu vermehren. Man braucht dann nicht die ganze Flüssigkeit einzudampfen.

Über den Nachweis von Proteasen.

Der kapillaranalytische Nachweis der proteolytischen Enzyme entspricht dem der Diastasen durch die Jodreaktion, bei welcher man aus dem Ausbleiben der Blaufärbung auf Stärkehydrolyse schließt. Man wird also die der Einwirkung einer Protease ausgesetzten Eiweißstoffe zu färben suchen. Dann zeigt das Ausbleiben der Färbung wie bei der Stärke die hydrolytische Einwirkung an.

Als günstiges Objekt, um ein Phytotrypsin nachzuweisen, wählen wir die Kotyledonen von Phaseolus, wenn die Keimpflanze eine Länge von etwa 15 *cm* erreicht hat. Nach Abreiben mit Alkohol, um etwaige Pilze zu entfernen, wird der Kotyledo in kleine Stückchen zerschnitten und mit ein wenig Thymol im Mörser zerrieben.

Das Reagenspapier für den Kapillarisator wird folgendermaßen zubereitet:

1 *g* Albumin wird in 50 *cm*³ Wasser unter Zusatz von 2 *cm*³ Ammoniak gelöst. In dieser Lösung läßt man das kreisförmig ausgeschnittene Filtrierpapier ca. 10 Minuten liegen und legt es dann zum Trocknen über eine Kristallisationsschale, da das Papier auf einer Platte sonst fest anhaften würde.

Für den gewählten Fall ist es nötig, das getrocknete Albuminpapier einige Zeit (¼ Stunde) den Dämpfen von Eisessig auszusetzen; für Pankreastrypsin ist dies nicht nötig.

Nachdem das so präparierte Papier im Kapillarisator ausgespannt worden ist, wird die zu kapillarisierende Masse in die Mitte gebracht und vier Tage darauf belassen. Als Antiseptikum gibt man Toluol und Thymol in die feuchte Kammer, in der die Kapillarisation vor sich geht.

Bei zu geringem Wassergehalt wird es nötig sein, die Mitte des ausgespannten Papiers vor dem Versuch ein wenig anzufeuchten. Bei zu träger Kapillarisation kann man auch nachträglich noch einige Tropfen Thymolwasser auf die aufgelegte Masse träufeln.

Das Kapillarisationsfeld bringt man darauf einige Stunden in ein Bad von halbgesättigter Kochsalzlösung, welches mit Essigsäure etwas angesäuert ist; dadurch werden eventuell gebildete Peptone gelöst, nicht aber das Albumin. Ersetzt man nun die Kochsalzlösung durch Wasser, so erscheint das Feld hell und durchsichtig, das umgebende, albuminhaltige Papier aber undurchsichtig.

Wenn man das Papier in diesem Zustande färbte, so würde man das entgegengesetzte Bild erhalten: das Kapillarisationsfeld mit intensiver Färbung, das intakte Eiweiß schwach gefärbt.

Man bringt, um den positiven Färbungsunterschied zu erzeugen, das Kapillarisationsfeld in ein Bad von $\frac{1}{2}$- bis 1%iger Natronlauge, und zwar nur kurze Zeit, bis das ganze Papier gleichmäßig aufgehellt ist. Nach Beseitigung des Natriumhydroxyds durch Wasser und Essigsäure schreitet man zur Färbung, die man in einem Bade von gesättigter Nigrosinlösung 24 Stunden vor sich gehen läßt, um das intakte Eiweiß mit dem Farbstoff völlig zu sättigen.

Nach Abspülen mit Wasser erhält man auf dunklem Grunde da eine helle Fläche, wo das Enzym gewirkt hat. Ist die Zeichnung nicht sehr deutlich, so legt man das Papier in Wasser, dem man 1 bis 2% Eau de Javelle zugesetzt hat, wodurch eine Entfärbung eintritt. Dabei wird aber die Papierfaser schneller gebleicht als das gefärbte Eiweiß.

In ähnlicher Weise kann man das Enzym auch auf andere Eiweißkörper einwirken lassen. Mir stand noch Legumin zur Verfügung, bei dessen Verwendung das Verfahren ein wenig modifiziert werden mußte.

Das Reagenspapier wurde bereitet: in 100 cm^3 Wasser gibt man 2·5 *g* Legumin und setzt 10 cm^3 Ammoniak hinzu. In dieser Lösung läßt man das Papier völlig durchtränken, trocknet es über einem Reifen oder einer Kristallisationsschale und nimmt die letzten Mengen von Ammoniak durch Essigsäuredampf hinweg.

Nach der Kapillarisation bringt man das Papier in ein Bad von 10% Magnesiumsulfat mit 2% Essigsäure. Nach einigen Stunden ersetzt man die Salzlösung durch Wasser und bringt das so zubereitete Papier in die Farblösung. Diese wird hergestellt durch Auflösung von Orcein in halb verdünntem Alkohol, welchem man einige Tropfen Ammoniak zusetzt. Das Kapillarisationsfeld verbleibt 24 Stunden in der Lösung, worauf man es mit Wasser abspült. Handelt es sich um den Nachweis von geringen Wirkungen, so muß man wie vorher mit der verdünnten Lösung von Eau

de Javelle aufhellen. Die Lösungsfigur ist dann ein helles Bild auf violletem Grunde.

Der Zellsaft aus den Kotyledonen von Phaseolus lieferte ein sehr deutliches Bild, und dieses Resultat war vorauszusehen: denn das Legumin gehört ja zu den Eiweißstoffen, welche in dem parenchymatischen Gewebe der Keimblätter abgelagert sind und bei der Keimung von dem Phytotrypsin aufgeschlossen werden.

Es ist nun zunächst zu zeigen, daß diese Bezeichnung richtig ist, daß nämlich die Aufschließung über die Peptonbildung hinausgeht.

Das Reagenspapier für diese Kapillarisation stellt man durch Infiltration von Filtrierpapier mit einer 4%igen Peptonlösung her. Auf diesem getrockneten Papier kann man die Kapillarisation wie vorher durchführen. Nachdem diese beendigt ist, legen wir das Feld gleichmäßig auf eine Filtrierpapierunterlage, welche mit einer 5%igen Lösung von Phosphorwolframsäure angefeuchtet ist. Hat sich der Niederschlag gebildet, so bringt man das noch feuchte Kapillarisationsfeld in eine Lösung von Methylorange, welche den Niederschlag färbt. In dem vorliegenden Fall wurde, wie zu erwarten war, eine schön ausgebildete Lösungsfigur erhalten, und das Enzym ist also als Phytotrypsin zu bezeichnen.

Von dem Pankreastrypsin unterscheidet es sich dadurch, daß es nicht oder nur mit sehr geringer Wirkung koaguliertes Eiweiß angreift. Um diesen Unterschied sichtbar zu machen, muß man das Albuminpapier längere Zeit in Alkohol liegen lassen, dem etwas Glyzerin zugesetzt ist (25 cm^3 Alkohol + 3 cm^3 Glyzerin). Ohne diesen letzten Zusatz würde sich die zu kapillarisierende Enzymlösung nicht ausbreiten.

Man ist bei dieser Methode keineswegs darauf beschränkt, nur ein Enzym in dem Kapillarisationsfelde aufzusuchen: auch wenn man Albuminpapier angewandt hat, kann man auf Oxydase, Peroxydase und Antioxydase etc. prüfen.

Um eine Diastase neben einer Protease nachzuweisen, hat man das Papier dementsprechend zu präparieren, wie aus folgendem Beispiel ersichtlich ist.

Ein Pankreastrypsin (Handelspräparat Kahlbaum) wirkte stark proteolytisch; gleichzeitig konnten dadurch auch Stärkekörner mit Leichtigkeit korrodiert werden. Für die Kapillarisation wurde ein Leguminpapier nach oben mitgeteilter Methode hergestellt, aber mit der Abänderung, daß das Legumin mit dem ammoniakalischen Zusatz in eine verdünnte Lösung (0·5—1%) von löslicher Stärke gegeben wurde. Zu 100 cm^3 dieser Stärkelösung kamen also 2·5 g Legumin und 10 cm^3 Ammoniak.

Nach der Kapillarisation wurde das Feld halbiert, worauf die eine Hälfte mit Orcein (s. oben), die andere mit Jodjodkaliumlösung gefärbt wurde.

Die Diastase war bedeutend vorangeeilt: denn die Stärkelösungszone hatte etwa den doppelten Radius der proteolytischen, auf der die Orceinfärbung ausblieb. Das Legumin wirkt nicht störend, wenn man noch an anderen

Ausschnitten des Kapillarisationsfeldes die Reaktionen mit Guajak oder Ursoltartrat + H_2O_2, ferner die Oxydasereaktion mit Violamin oder die Tyrosinasereaktion mit Tyrosin hervorrufen will. Man hat dann die Sektoren auf Unterlagen zu bringen, welche mit den betreffenden Reagenslösungen getränkt sind.

Es ist mir gelungen, die vorher eingehend beschriebene Methode, Proteasen kapillaranalytisch darzustellen, noch wesentlich zu verbessern. Als Substrat, mit welchem das Fließpapier des Kapillarisators zu filtrieren ist, eignet sich vorzüglich Edestin, das man von der Firma *Gehe* oder *Gärtner* beziehen kann.

Man löst 0·5 *g* Edestin in 25 *cm*³ Wasser auf und setzt dann 0·5 *cm*³ Ammoniak hinzu. In einer Schale übergießt man damit das Filtrierpapier, läßt es auf Glasstäben trocknen und spannt es dann aus. Auf die Mitte läßt man einige Tropfen Trypsinlösung auffallen, welche nach 24—48 Stunden im feuchten Raum unter antiseptischen Vorsichtsmaßregeln ein Kapillarisationsfeld liefern, das man zu färben hat.

Zu diesem Zweck löst man Azolithmin in Ammoniakflüssigkeit auf, so daß eine konzentrierte Lösung entsteht, welche man neutralisiert und filtriert. Das Kapillarisationsfeld bleibt darin mehrere Stunden liegen. Ist die Zeichnung nicht sehr deutlich, so kann man in gleicher Weise, wie vorher angegeben wurde, mit Eau de Javelle aufhellen.

Zum Schluß mögen hier noch einige Angaben über das Material folgen, da es mitunter erwünscht ist, zum Vergleich Chronogramme aus bekanntem Material herzustellen.

Durch Zerreiben der Peridermschicht der Kartoffelknolle unter Zusatz von ein wenig Glas oder Quarz enthält man eine Masse, auf deren Kapillarisationsfeldern sich die Reaktionen folgender Enzyme leicht erzeugen lassen: 1. Oxydase mittelst Tetramethylparaphenylendiaminchlorid, Peroxydase mittelst Guajak- oder Ursoltartrat + H_2O_2 und Antioxydase mittelst Ursoltartrat- oder Karminsäure in schwach alkalischer Lösung + H_2O_2. 2. Diastase bei Anwendung von Stärkepapier und Jodjodkalium; außerdem gleichzeitig die unter Nr. 1 genannten Enzyme. 3. Tyrosinase bei Anwendung von Tyrosin-Stärkepapier; außerdem gleichzeitig die unter Nr. 1 und 2 genannten Enzyme.

Mit der Milch der Kokosnuß erhält man Kapillarisationsfelder für Oxydase, Antioxydase und Peroxydase ohne Nebenwirkung von Diastase.

Eine solche Peroxydase ohne die diastatische Nebenwirkung ist auch in der Milch von Euphorbia cyparissias zu finden, während der Milchsaft der tropischen Arten, in welchen die knochenförmigen Stärkekörner zu beobachten sind, eine Peroxydiastase enthält.

Der Mehlkörper unserer Getreidearten liefert auf Stärkepapier ein Kapillarisationsfeld von Translokationsdiastase mit Nebenwirkung von Peroxydase.

Für Sekretdiastase mit Nebenwirkung von Peroxydase (Peroxydiastase) ist der Mehlkörper gekeimter Gerste das beste Material.

Zur Darstellung von Proteasewirkungen eignet sich außer den Kotyledonen von Vicia Faba auch noch Anagallis arvensis (nach *Daccomi* und *Tommasi*), deren junge Blätter man zerreibt.

Zur Darstellung eines Chromogramms von der Hydrogenase, wobei man die Kapillarisation auf einem mit Schwefelblumen oder Schwefelmilch bestäubten Papier unter Wasserstoff ausführt, verwendet man zerriebene, aus dem Gärbottich genommene Hefe oder das zerriebene Fleisch aus dem Hute derjenigen Pilze, welche mit Guajak keine Blaufärbung geben, z. B. Coprinuus atramentarius u. a.

Zum Auffangen des aufsteigenden H_2S überdeckt man das Kapillarisationsfeld in 1—2 *mm* Abstand mit einer Glasplatte, die man mit feuchtem, Bleiacetatlösung enthaltendem Filtrierpapier überzogen hat.

Aus dem Milchsaft von Lactarius vellerius kann man am besten Kapillarisationsfelder für Tyrosinasereaktionen herstellen; ein Reagens außer Tyrosin ist hier Ursoltartrat (ohne H_2O_2).

Um eine Lösung von Amylokoagulase zu erhalten, habe ich bis jetzt als Material nur den Keimling aus 1—2 Tage gekeimter Gerste und das embryonale Endosperm unreifer Gerste benutzt. In den Kapillarisationsfeldern findet man das Enzym außerhalb der Diastasezone doch läßt es sich auch durch innere Auswaschung gewinnen. Die diastasefreien Zonen sind auszulaugen. Nähere Angaben sind in meinem Werke Biologie und Kapillaranalyse der Enzyme, Berlin 1912, zu ersehen.

Methoden zum Nachweis weiterer im Urin vorkommender Verbindungen mit Einschluß der wichtigsten körperfremden Stoffe.

Nachtrag von Prof. Dr. **Hermann Hildebrandt,** Halle a. S.

1. Gepaarte Glykuronsäuren.

Mentholglukuronsäure kann man in bequemer Weise mit Umgehung jeglicher Bleifällung als direkt kristallisierendes Ammoniumsalz aus dem Harn isolieren. Der nach Verabfolgung von Menthol an Kaninchen gesammelte Harn wird mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit etwa einem Viertel seines Volumens Äther und einem Achtel Alkohol von 98% versetzt und 4 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Der abgetrennte und filtrierte Ätherauszug wird mit konzentriertem Ammoniak bis zur ausgesprochenen alkalischen Reaktion versetzt und abdestilliert. Von selbst oder auf Zusatz von etwas konzentriertem Ammoniak kristallisiert fast der gesamte Ätherrückstand. Man säugt am nächsten Tage das schwer lösliche mentholglukuronsaure Ammoniak ab und wäscht es mit etwas Wasser. Es verliert an der Luft leicht Ammoniak. Durch Umkristallisieren des rohen Ammoniumsalzes aus säurehaltigem Wasser erhält man sofort analysenreine. freie Mentholglukuronsäure.[1])

Noch einfacher ist folgende Methode: Man versetzt den gesammelten Harn mit Ammoniumsulfat bis zur Halbsättigung, erhitzt zum Kochen und filtriert warm. Beim Abkühlen scheidet sich das NH_4-Salz der Mentholglykuronsäure schneeweiß aus und zwar so gut wie quantitativ: die freie Säure läßt sich durch Auflösen in säurehaltigem Alkohol bequem darstellen.[2])

Zur Gewinnung von p-Kresolglukuronsäure verabreicht man Hunden 50 *g* p-Kresol in täglichen Dosen von 1 *g* mittelst Schlundsonde: der gesammelte Urin wird mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade auf ein Volumen von ca. 3 Liter eingeengt. Der braun gefärbte, von einigen auskristallisierten Salzen abgegossene Harn wird

[1]) *C. Neuberg* und *S. Lachmann*, Über ein neues Verfahren zur Gewinnung von Glukuronsäure (und Mentholglukuronsäure). Biochem. Zeitschr. Bd. **24**. S. 416 (1910).

[2]) *J. Bang*, Methodologische Notizen. Über die Darstellung der Mentholglukuronsäure: Biochem. Zeitschr. Bd. **32**. S. 445 (1911).

phosphorsauer gemacht und nach der Methode von *E. Külz* 6mal mit einem Gemisch von je 2 Teilen Äther und 1 Teil Alkohol ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge werden nach Zusatz von Bariumkarbonat abdestilliert. Die abgeschiedenen Massen werden mit mehreren Litern Wasser ausgekocht und siedend vom Bariumkarbonat abfiltriert. Beim Eindampfen kristallisieren dicke Krusten aus, welche abgesaugt und aus heißem Wasser unter Zusatz einer kleinen Menge Knochenkohle leicht rein erhalten werden. Perlmutterartig glänzende, weiße Blättchen, die an Cholesterinkristalle erinnern. Es liegt eine Verbindung gleicher Moleküle der Bariumsalze von p-Kresolglukuronsäure und p-Kresolschwefelsäure vor. Löst man das Salz in heißem Wasser, fällt mit Bleiessig, zersetzt das Filtrat der Fällung mit Schwefelwasserstoff und gibt zur Lösung konzentrierte Kaliumkarbonatlösung, so fällt Bariumkarbonat aus und aus dem Filtrat erhält man p-kresolschwefelsaures Kalium.[1])

2. Entmethylierung.

Wenn man den nach Darreichung von mono- oder di-Methyl-dibrom-o-toluidin von Kaninchen oder Hunden gelassenen Harn mit verdünnter Schwefelsäure destilliert, so geht ein Destillat über, welches alsbald im vorgelegten Kolben kristallinisch wird. Wenn der Harn größere Mengen enthält, so scheidet sich ein größerer Anteil bereits im Kühlrohr als feste Masse ab. Durch Ausspülen mit Alkohol und vorsichtigen Zusatz von Wasser kann auch dieser Anteil kristallinisch erhalten werden. Auch Zusatz von Alkali befördert die Ausscheidung. Die Substanz ist das durch Entmethylisierung an der Amidogruppe entstandene bei 50° schmelzende Dibrom-o-toluidin.

Wird der nach Einfuhr von p-Brom-dimethyl-o-toluidin gelassene Harn mit Zusatz von Schwefelsäure destilliert, so geht ein stark getrübtes Destillat über; es wird alkalisch gemacht und mit Äther geschüttelt, der Äther verjagt, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und Salz- oder Bromwasserstoffsäure zugesetzt, worauf eine Kristallisation erfolgt. Das Salz wird aus heißem Wasser umkristallisiert; setzt man zur wässerigen Lösung Alkali im Überschuß, so erfolgt die Ausscheidung des freien Mono-brom-o-toluidins Sp. 58°. Aus dem Harn kann man es auch gewinnen, wenn man den mit Natronlauge versetzten Harn direkt alkalisch destilliert.[2])

3. Oxydationen.

Aus dem Harn von Hunden und Kaninchen, welche längere Zeit mit Benzol gefüttert werden, gelingt es, Mukonsäure zu isolieren, welche durch Aufspaltung des Benzolringes entsteht:

[1]) *C. Neuberg* und *E. Kretschmer*, Über p-Kresolglukuronsäure. Bioch. Zeitschr. Bd. **36**. S. 15 (1911).

[2]) *H. Hildebrandt*, Pharmakologische und chemotherapeutische Studien in der Toluidinreihe. Arch. f. exp. Pharm. u. Path. Bd. **65**. S. 59 (1911).

```
      CH                              CH
HC//    \CH                     HC//    \COOH
   |    ||          ——>           |
HC      CH                      HC\\    /COOH
   \\  /                              CH
     CH
```

Der Urin wird auf dem Wasserbade abgedampft und mit heißem Alkohol extrahiert, die alkoholischen Auszüge nach dem Verdampfen des Alkohols in Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert und 5—6mal in der Maschine mit Äther gründlich ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge werden durch Destillation bis auf den 3. Teil konzentriert und ca. 24 Stunden stehen gelassen, wobei sich ein schwarzer, harzartig schmieriger, mit Kristallen durchsetzter Bodensatz absondert. Die abgegossene Ätherlösung scheidet bei allmählichem Verdunsten kristallinische, fest am Glase haftende Krusten aus. Die Kristallkrusten werden in heißem Wasser unter Zusatz der gerade ausreichenden Menge Ammoniak gelöst und durch Kochen mit wenig Tierkohle entfärbt. Durch Ansäuern mit Salzsäure wird die Mukonsäure in ganz farblosen Kristallen gewonnen. Sp. 289—290°. In den Ätherauszug kann auch Kynurensäure übergehen; doch scheidet sich diese früher aus als die Mukonsäure; dann folgen Ausscheidungen von Schwefel und zuletzt die Krusten der Mukonsäure.[1])

Das nach Darreichung von Benzidin an Kaninchen sich spontan abscheidende Harnsediment ist besonders reichlich, wenn man den Harn im Eisschrank im verschlossenen Gefäße stehen läßt. Nach etwa einer Woche dekantiert man und gewinnt aus dem Reste durch Zentrifugieren das Sediment. Nach weiterer Aufbewahrung der dekantierten Flüssigkeit im Eisschrank bildet sich gewöhnlich noch ein zweites Sediment, welches wie oben angegeben verarbeitet wird. Das völlig trockene Pulver wird in 96%igen Alkohol unter Erwärmen gelöst und mit wenig reinster Tierkohle kurze Zeit gekocht und heiß filtriert, der Filterrückstand mit siedendem Alkohol mehrmals nachgewaschen. Nach dem Abdampfen der alkoholischen Auszüge auf dem Wasserbade wird der gelbliche Rückstand mit Wasser verrieben und aus siedendem Wasser umkristallisiert. Beim Erkalten fällt die Substanz rein weiß aus. Die Substanz erweist sich als Diaminodioxydiphenyl, indem die OH-Gruppen in die beiden Kerne eingetreten sind.[2])

Der Aminoacetaldehyd geht im tierischen Organismus, ähnlich wie auf chemischem Wege, leicht durch Oxydation in Pyrazin über:

[1]) *M. Jaffé,* Über die Aufspaltung des Benzolringes im Organismus. 1. Mitteilung: Das Auftreten von Mukonsäure im Harn nach Darreichung von Benzol. Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. 62. S. 58 (1909).

[2]) *O. Adler,* Die Wirkung und das Schicksal des Benzidins im Tierkörper. Arch. f. experim. Pharm. u. Path. Bd. 58. S. 167 (1908).

$$\begin{array}{ccccccc} NH_2 & & & & & N & \\ / & & & & / & & \\ CH_2 & + & CHO & + O = 3H_2O + & CH & & CH \\ | & & | & & \| & & | \\ CHO & & CH_2 & & CH & & CH \\ & & / & & & \diagdown N \diagup\!\!\diagup & \\ & H_2N & & & & & \end{array}$$

Man verfüttert an große Kaninchen täglich je 5 *g* (in zwei Dosen à 2·5 *g*), bis mindestens 30 *g* verabreicht worden sind und konserviert den von den Tieren gelassenen Harn mit Chloroform. Die Verarbeitung geschieht in der Weise, daß die vereinigten Harnportionen (etwa 4 Liter) mit starker Natronlauge deutlich alkalisch gemacht und aus einem Rundkolben mit Wasserdampf destilliert werden. Das alkalisch reagierende Destillat (ca. 750 *cm*³) wird mit Salzsäure neutralisiert und mit gesättigter Sublimatlösung ausgefällt. Der entstandene Niederschlag wird nach 24 Stunden abfiltriert, mit kaltem Wasser ausgewaschen und in einem Rundkolben nach Zusatz von Natronlauge wieder der Destillation mit Wasserdampf unterworfen. Auf Zusatz von starker Goldchloridlösung zu dem filtrierten Destillate fällt sofort ein gelber Niederschlag aus, der nach 24 Stunden abgesaugt und aus viel heißem Wasser umkristallisiert wird: feine bei 202° schmelzende Nadeln von gelber Farbe mit einem Stich ins grünliche: Pyrazingoldchlorid.[1])

Zur quantitativen Bestimmung des Urotropins im Harn werden 100 *cm*³ Urotropin-Harn — bei hohem Eiweißgehalt wird die Hauptmenge vorteilhaft zunächst mit Alkohol gefällt — mit 10 *cm*³ 25%iger Essigsäure versetzt und nach Umschütteln sofort mit 80—120 *cm*³ konzentrierter Sublimatlösung versetzt, und zwar im Überschuß. Nachdem sich der entstandene Niederschlag gut abgesetzt hat, wird er abfiltriert und mit sublimathaltigem Wasser ausgewaschen: danach wird der Filterrückstand in einen Kolben gespült, worin sich 10—15 *cm*³ konzentrierter Kochsalzlösung befinden. Nach kräftigem Umschütteln digeriert man noch etwa $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade und filtriert nach vollkommenem Erkalten vom U[illegible]lösten ab. Zum Filtrat wird portionsweise 20%ige Kalilauge hinzugefügt, bis keine Fällung von Quecksilberoxyd mehr entsteht. Nach gutem Absitzen des Niederschlages wird abfiltriert und das Filtrat unter Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure mit einigen Körnchen Kupfersulfat versetzt. Nach Destillation und Titration in der üblichen Weise ist die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{10}$-Säure mit 0·0035 zu multiplizieren, um den Gehalt von Urotropin zu erfahren.[2])

---

[1]) *T. Kikkoji* und *C. Neuberg*, Über das Verhalten von Aminoacetaldehyd im tierischen Organismus. Biochem. Zeitschr. Bd. **20**. S. 463 (1909).

[2]) *F. Schröter*, Zur Methodik der quantitativen Bestimmung des Hexamethylentetramins (Urotropin) im Harn. Arch. f. experim. Pharm. u. Path. Bd. **64**. S. 161 (1911).

Die Formoltitration.

Von **H. Jessen-Hansen**, Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.

A. Allgemeines.

Der erste, welcher die durch Formol bewirkte Trennung der Amin- und Säurefunktion der Aminosäuren und der Proteinstoffe eingehend studiert hat, ist *H. Schiff*[1]), welcher nicht nur gezeigt hat, daß neutrale Lösungen dieser Stoffe durch Formolzusatz sauer werden, sondern auch einige der dadurch aus leicht zugänglichen Aminosäuren gebildeten Methylenverbindungen isolierte. Wenn indessen weder er noch spätere Forscher diese Reaktion zu einer Meßmethode ausgearbeitet haben, so ist die Ursache wahrscheinlich in dem Umstand zu suchen, daß die Arbeiten *Schiffs* keineswegs dazu einluden, den Versuch zu machen, eine quantitative Methode auf der studierten Reaktion aufzubauen, indem seine Versuchsresultate sehr von den vorhandenen Mengen von Formol und Wasser abhängig waren.

Es gibt indessen noch einen Faktor, der bei dem genannten Prozesse von Belang ist, aber von *Schiff* vernachlässigt wurde, nämlich das Kaliumhydroxyd, welches bei der Titrierung zur Anwendung kommt. Die während der Einwirkung des Formols auf eine Aminosäure und während der nachfolgenden Titration sich abspielenden Prozesse sind nämlich reziprok und führen zu einem Gleichgewichtszustand, der von den Mengen aller anwesenden Stoffe abhängig ist:

$$\begin{array}{lllll} CH_3 & & & CH_3. & \\ \cdot & & & \cdot & \\ CH.NH_2 & + & HCOH & \rightleftharpoons \quad CH.N{:}CH_2 & + \; H_2O \\ \cdot & & & \cdot & \\ COOH & + & KOH & \quad\;\; COOK & + \; H_2O \end{array}$$

Es ist leicht verständlich, daß eine Vermehrung des Kaliumhydroxyds, d. h. der Hydroxylionen, in dem oben angeführten Prozeß ganz dieselbe Wirkung haben wird, wie eine Vermehrung des Formols oder eine Verminderung des Wassers, nämlich den Vorgang nach rechts zu verschieben.

Hier setzt nun die Arbeit von *S. P. L. Sörensen*[2]) ein. Fußend auf dem Umstande, daß die verschiedenen Indikatoren ihren Umschlag bei

[1]) Annalen der Chemie. **310**. 25 (1899); **319**. 59 und 287 (1901); **325**. 348 (1902).

[2]) Enzymstudien I. Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. **7**. 1 (1907) und Bioch. Zeitschr. **7**. 43 (1907).

einer verschiedenen Konzentration der Wasserstoff- oder — was auf dasselbe hinausläuft — der Hydroxylionen haben, suchte er bei der Titration einen Indikator zu verwenden, dessen Umschlag einer so großen Konzentration der Hydroxylionen entspricht, daß der obengenannte Prozeß von links nach rechts zu Ende geführt wird. Einen solchen Indikator stellt das Phenolphtalein dar, wenn nicht bis zur schwach, sondern zur stark roten Farbe titriert wird, oder unter Umständen noch besser das Thymolphtalein, dessen Umschlag eine noch etwas größere Konzentration der Hydroxylionen angibt. In dieser Weise gelangte er dann zu einer Methode, durch welche die meisten bekannten und einigermaßen leicht zugänglichen Aminosäuren sich mit einer Genauigkeit von 95—100% der vorhandenen Mengen titrieren lassen, wenn nur immer in demselben Volum gearbeitet und dafür gesorgt wird, daß stets ein genügend großer Überschuß an Formol vorhanden ist.

Durch Untersuchungen, besonders von *E. Fischer* und seine Mitarbeitern, über die Polypeptide ist es sehr wahrscheinlich gemacht worden, daß weitaus der wesentlichste Teil des Proteinstoffmoleküls aus Aminosäuren aufgebaut ist, die säureamidartig unteinander verkettet sind:

$$RCOOH + H_2NR' = RCO\text{-}HNR' + H_2O.$$

Bei der Proteolyse, durch welche Agenzien sie auch hervorgerufen sein möge, kommt es hauptsächlich zur hydrolytischen Lösung solcher Bindungen unter Wasseraufnahme.

Von diesem Gesichtspunkt aus hat *Sörensen* nun die Formoltitration zu einer Methode verwertet, welche den Abbau der Proteinstoffe oder die Proteolyse quantitativ zu verfolgen erlaubt, und zwar weit rationeller und mit einer größeren Genauigkeit, als die gewöhnlichen Fällungsmethoden es ermöglichen, indem er die Fähigkeit des Formaldehyds, Aminogruppen ihren basischen Charakter zu nehmen, ohne selbst eine Säure zu sein, derart benutzt, daß er durch Formolzusatz die vorhandenen, bzw. durch die Proteolyse gebildeten Aminogruppen neutralisiert und dadurch eine äquivalente Säuremenge der Titration zugänglich macht. Die Differenz zwischen der zu zwei verschiedenen Zeitpunkten in irgend einer in Verdauung begriffenen Flüssigkeit auf diese Weise titrierbaren Säuremenge wird somit ein Maß für die in dem betreffenden Intervall gelösten Peptidbindungen.

Während die Methode bei den Untersuchungen über Proteolyse als eine Differenzmethode auftritt, liegt die Sache anders, wenn man den augenblicklichen Gehalt einer Flüssigkeit an Aminosäuren zu bestimmen wünscht. Hier handelt es sich darum, erstens andere Säuren auszuschließen, und zweitens einen Nullpunkt der Titration ausfindig zu machen, das heißt von einer Reaktion, oder korrekter, von einer Wasserstoffionenkonzentration auszugehen, bei welcher gleich viel saure und basische Gruppen in der Lösung vorhanden sind. Wenn man auf irgend eine Weise der Flüssigkeit diese Reaktion zu erteilen vermag, so ersieht man gleich, daß eine Bindung der Aminogruppen durch Formolzusatz eine mit denselben äqui-

valente Menge Säuregruppen freimachen wird, welche dann bei der späteren Titration bestimmt werden kann. Diese Säuremenge wird somit ein Maß für die durch den Formolzusatz ausgeschalteten Aminogruppen liefern, vorausgesetzt, daß außer den durch Formolzusatz aktivierten Aminosäuren keine andere schwache Säure vorhanden ist, die in dem während des Titrationsvorganges durchlaufenen Gebiet von Wasserstoffionenkonzentration ihr Dissoziationsgebiet hat und demzufolge einen Gehalt an Aminosäuren vortäuschen würde.[1])

Von solchen Säuren sind es hauptsächlich Kohlensäure und Phosphorsäure oder saure Salze derselben, welche in dieser Beziehung eine Rolle spielen, indem sie in den meisten biologischen Flüssigkeiten in größeren oder kleineren Mengen vorhanden sind. Glücklicherweise aber lassen sie sich durch Zugabe von Barytlauge und Chlorbaryum ohne größere Schwierigkeiten unschädlich machen, wie es später genauer erörtert werden wird.

[1]) Wenn man nach *Leonor Michaëlis* (Über die Dissoziation der amphoteren Elektrolyte. Bioch. Zeitschr. **33**. 182 [1911]) den Dissoziationsvorgang eines Elektrolyten derart in ein Koordinatensystem aufzeichnet, daß man den Wasserstoffionenexponent $p_{H^\cdot}$ (den Logarithmus des Volums [in Litern] welches 1 *g* — ein Äquivalent — Wasserstoffionen enthält) als Abszisse benutzt und den undissoziierten Teil des Elektrolyten als Ordinat, dann erhält man laut den Auseinandersetzungen *Michaëlis'* Kurven, welche für solche Körper (die Säuren), die Wasserstoffionen abdissoziieren, symmetrisch sind mit denjenigen, welche Geltung haben für solche, die Hydroxylionen abdissoziieren (die Basen), übrigens aber sämtlich von derselben Form und nur der Lage nach verschieden sind.

Die gewöhnliche Dissoziationsgleichung einer Säure:

$$[H^\cdot] \cdot [A'] = k\,([A] \div [A']),$$

wo [A] den gesamten dissoziierbaren Körper bedeutet, [A'] die Säurerestionen, [H·] die Wasserstoffionen und k die Dissoziationskonstante der Säure, geht nämlich, wenn man den Dissoziationsrest $\rho = 1 \div [A']$ und für die Wasserstoffionen deren logarithmischen Ausdruck $[H^\cdot] = \frac{1}{10^{p_{H^\cdot}}}$ einführt, in die folgende Gleichung über:

$$\rho = \frac{1}{1 + k\,10^{p_{H^\cdot}}} = \frac{1}{1 + 10^{p_{H^\cdot} + \log k}}.$$

Da nun die verschiedenen Säuren in dieser Beziehung nur durch die verschiedene Dissoziationskonstante k von einander abweichen, so sieht man sogleich aus der Gleichung, daß die Kurven, welche die Abhängigkeit des ρ von dem $p_{H^\cdot}$ darstellen, nur durch die durch k bestimmte Lage verschieden sind.

Für die Basen findet man leicht die entsprechende Gleichung

$$\rho = \frac{1}{1 + 10^{\div p_{H^\cdot} + \log k_w + \log k}}$$

indem k_w die Dissoziationskonstante des Wassers und k die der Base ist. Und da $p_{H^\cdot}$ hier mit negativem Vorzeichen auftritt, so wird die durch diese Gleichung repräsentierte Kurve symmetrisch mit der obenerwähnten für Säuren.

Eine einfache Rechnung zeigt, daß die Dissoziation einer Säure hauptsächlich in dem Gebiete (dem Dissoziationsgebiete), wo $\div \log k \div 2 < p_{H^\cdot} < \div \log k + 2$ stattfindet. Die erste Grenze gibt nämlich $\rho = 1/1{\cdot}01$ also 99% undissoziiert, und die zweite gibt $\rho = 1/101$, somit nur 1% undissoziiert. Weiter sieht man, daß von diesen 98% wieder die 82% in dem Intervall $\div \log k \div 1 < p_{H^\cdot} < \div \log k + 1$ fallen, in-

Wenn nun die Aminosäuren sämtlich gleich stark als Säure und als Base fungierten, dann würde der Punkt, welcher als Ausgangspunkt der Formoltitration zu betrachten wäre, einfach der Neutralpunkt nach der allgemeinen Auffassung dieses Wortes sein, das heißt der Punkt, bei welchem gleich viele Wasserstoff- und Hydroxylionen in der Lösung vorhanden sind. Weil aber für die bekannten Aminosäuren der saure Charakter überall etwas stärker als der basische ist, so darf man nicht mit der Titration beim Neutralpunkt anfangen, sondern muß einen anderen Ausgangspunkt suchen. Wenn nun in dieser Richtung ein großer Unterschied zwischen den verschiedenen Aminosäuren vorhanden wäre, dann würde dieser Umstand das ganze Verfahren vereiteln. Glücklicherweise lehrt aber die Erfahrung, daß dies nicht der Fall ist. Die diesbezüglichen Untersuchungen von *Henriques* und *Sörensen* [1]) zeigen, daß, wenn man die dem

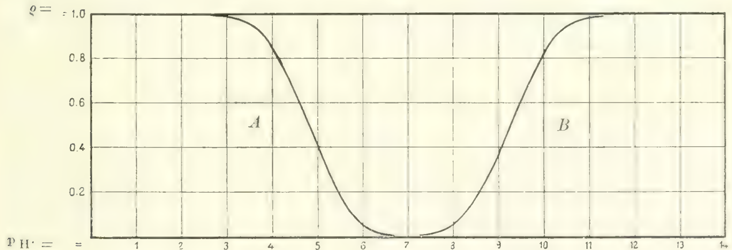
---

dem $p_{H^\cdot} = \div \log k \div 1$ uns $\rho = 1/1{\cdot}1$ gibt, und für $p_{H^\cdot} = \div \log k + 1$ hat man $\rho = 1/11$. Da $1/1{\cdot}1 \div 1/11 = 0{\cdot}82$ ist, so sieht man, daß in dem betrachteten Intervall $82^0/_0$ des gesamten dissoziierbaren Körpers in dissoziierten Zustand übergeht.

In ähnlicher Weise sieht man, daß das Dissoziationsgebiet einer Base zwischen $p_{H^\cdot} = \div \log k_w \div \log k \pm 2$ liegt. In der nebenstehenden Figur zeigt *A* die Dissoziationskurve der Essigsäure, *B* die des Ammoniaks.

Fig. 53.





Das, was bei einer Titration vor sich geht, ist eben nur, daß die Wasserstoffionenkonzentration der zu titrierenden Lösung durch Zugabe der Titrierflüssigkeit aus ihrer ursprünglichen Lage in die durch den Indikatorumschlag angegebene verschoben wird, und die Körper, welche sich bei der Titrierung bestimmen lassen und bestimmt werden, sind **sämtliche** solche, und **nur** solche, deren Dissoziationskurven ihre Lage ganz innerhalb des während der Operation passierten Gebiets von Wasserstoffionenkonzentrationen haben. Wenn das Dissoziationsgebiet des betreffenden Körpers mit dem Umschlagsgebiet des Indikators zusammenfällt, dann wird die Titration ungenau, der Körper wirkt als „Puffer". (Siehe: *S. P. L. Sörensen,* Enzymstudien II. Comptes rendus du Lab. de Carlsberg. 8. 1 (1909) und Biochem. Zeitschr. 21. 131 (1909).

Als Beleg für das Gesagte kann angeführt werden, daß es nicht möglich ist, das Ammoniak mit Phenolphtalein als Indikator, die Essigsäure mit Dimethylorange, oder die Phosphorsäure mit Lackmus zu titrieren.

[1]) *Henriques* und *Sörensen*, Zeitschr. f. physiol. Chemie, **64**. 120 (1910).

p_H = etwa 6·8 entsprechende Wasserstoffionenkonzentration, das ist eine ganz schwach saure Reaktion (empfindliches Lackmuspapier), als Ausgangspunkt für die Titrierung benutzt, man Resultate erhält, die an Genauigkeit nichts zu wünschen übrig lassen, wenigstens im Vergleich mit anderen biochemischen Untersuchungsmethoden. Die Methodik, welche bei solchen Bestimmungen zu befolgen ist, wird später genau mitgeteilt werden.

In einer gewissen Mittelstellung zwischen der Verfolgung einer Proteolyse und der Bestimmung des absoluten Gehalts einer Flüssigkeit an formoltitrierbaren Stickstoff stehen die Bestimmungen von Polypeptiden oder richtiger von peptidgebundenem Stickstoff. Indem man von der Annahme ausgeht, daß die Polypeptide sich sämtlich durch eine mehr oder weniger energische Behandlung mit Säuren, vorzugsweise Salzsäure, in die einzelnen Aminosäuren, aus welchen sie aufgebaut sind, völlig zerlegen lassen, läuft die Methode auf eine Formoltitrierung vor und nach der Säurebehandlung hinaus. Die dadurch erhaltene Differenz ist dann ein Maß für den Stickstoff, welcher im peptidgebundenen Zustand vorhanden gewesen ist. Man muß im letzten Falle entweder die zwecks der Säurebehandlung von außen her hinzugekommene Säuremenge in anderer Weise, z. B. durch eine Chlorbestimmung, ermitteln und in Rechnung bringen, oder aber, was meistens einfacher ist, man erteilt vor und nach der Säurebehandlung der zu untersuchenden Flüssigkeit dieselbe Wasserstoffionenkonzentration (dieselbe Reaktion empfindlichem Lackmuspapier gegenüber), bevor man das Formol zugibt.

B. Fehlerquellen der Methode.

Bei der Benutzung der Methode ist darauf zu achten, daß — wie schon von *Sörensen*[1]) in seiner ersten Mitteilung angegeben — zwei unter den Proteinspaltprodukten, nämlich die α-Pyrrolidinkarbonsäure (α-Prolin) und das Tyrosin, bei der Titrierung nur unsichere Resultate geben, so daß die Methode, wenn diese Körper in reichlicher Menge vorhanden sind, unbrauchbar sein wird. Bei den gewöhnlichen Proteinstoffen aber treten diese beiden Aminosäuren nur in so geringen Mengen auf, daß sie keinen nennenswerten Einfluß auf das Resultat ausüben können. Übrigens geht der Fehler bei den zwei Körpern in entgegengesetzten Richtungen, indem das α-Prolin zu niedrige und das Tyrosin zu hohe Resultate liefert, was jedenfalls den Gesamtfehler kleiner erscheinen läßt.

Außerdem ist zu beachten, daß Harnstoff und Guanidinsalze auch nach Formolzusatz sich wie vollständig neutrale Körper verhalten, und daß daher das Arginin, welches eine Guanidino-, eine Amino- und eine Karboxylgruppe enthält, nach Zusatz von Formol sich wie ein völlig

[1]) *Sörensen*, Comptes-rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg 7. 15 (1907) und Bioch. Zeitschr. 7. 59 (1907).

neutraler Stoff verhält, dessen Salze, z. B. Chlorhydrate, sich glatt wie einbasische Säuren titrieren lassen.

Von *de Jager*[1]) wurde der Einwand erhoben, daß eine Mischung von Ammoniumsalzen und Aminosäuren nicht dasselbe Resultat bei der Formoltitration gibt, als wenn man die beiden Körper getrennt titriert. Diese Einwendung ist von *Henriques* und *Sörensen*[2]) als richtig erkannt und auf eine Nebenreaktion zurückgeführt worden. Doch finden sie diesen Fehler bei kleinen Ammoniakmengen belanglos. Wenn aber größere Mengen vorhanden sind, dann muß man das Ammoniak erst wegschaffen, was durch Destillation mit Baryt unter stark vermindertem Druck geschieht. In einer späteren Publikation[3]) hat *de Jager* gefunden, daß die Anwesenheit von Harnstoff den von dem Ammoniak herrührenden Fehler aufhebt, derart, daß man im Harn auch ohne Austreiben des Ammoniaks richtige Werte erhält.

Endlich ist die Eigenfarbe der Lösungen bisweilen ein Hindernis bei der genauen Wahrnehmung des Endpunkts der Titration. In den meisten Fällen, wo es sich um enzymatische Spaltprodukte oder dergleichen handelt, ist dieser Umstand von geringem Belang; doch kann man nicht selten das Resultat dadurch verschärfen, daß man der Kontrollösung, welche man immer für die genaue Feststellung des Endpunktes der Titration verwenden muß, durch Zusatz einiger Tropfen geeigneter Farbstofflösungen einen demjenigen der zu titrierenden Flüssigkeit ähnlichen Farbton beibringt. Als solche Farbmittel eignen sich besonders Bismarckbraun, Tropäolin 0 und Tropäolin 00, alle in Lösungen von 0·2 *g* in 1 *l* Wasser. In einzelnen Fällen leistet außerdem eine ganz schwache Methylviolettlösung (0·02 *g* in 1 *l* Wasser) gute Dienste.

Wenn es sich dagegen um Lösungen von Säurespaltungsprodukten der Proteine handelt, dann werden solche oft dermaßen geschwärzt sein, daß eine Titration ohne vorherige Entfärbung aussichtslos erscheint. Eine solche mittelst Knochenkohle auszuführen, bringt verschiedene Nachteile mit sich, u. a. einen verhältnismäßig großen Verlust an Stickstoff. Dagegen wird, wie *S. P. L. Sörensen* und *H. Jessen-Hansen*[4]) gezeigt haben, die Hervorrufung eines Niederschlages von Chlorsilber in der passend sauren Flüssigkeit leicht zum Ziel führen. In ähnlicher Weise entfärbt *O. Bailly*[5]) Pflanzenauszüge durch Hervorrufung eines Niederschlages von silikowolframsaurem Chinin, Filtrieren und eine darauffolgende kurze Behandlung mit Tierkohle. *Abderhalden*[6]) schlägt zur Entfärbung von Hydrolysen-

[1]) *de Jager*, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **62**. 333 (1909).

[2]) *Henriques* und *Sörensen*, ibid. **64**. 120 (1910).

[3]) *de Jager*, ibid. **67**. 105 (1911).

[4]) *S. P. L. Sörensen* und *H. Jessen-Hansen*, Comptes-rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. **7**. 58 (1908) und Bioch. Zeitschr. **7**. 407 (1907).

[5]) *O. Bailly*, Bull. des Sciences Pharmacol. **18**. 702, zit. nach Chem. Zentralbl. **83**. 1640 (1912).

[6]) *Emil Abderhalden*, Neuere Ergebnisse der Eiweißchemie. G. Fischer, Jena 1909. S. 24.

flüssigkeiten Zusatz eines Metalles in Form eines Salzes vor, das durch Schwefelwasserstoff sich als Sulfid niederschlagen läßt.

C. Anwendungen der Formoltitrierung.

Das Verfahren hat nicht nur für den von *Sörensen* ursprünglich vorgeschlagenen Zweck: Verfolgung einer Proteolyse Anwendung gefunden, sondern ist später in verschiedenen anderen Richtungen verwertet worden. So ist es von *V. Henriques*[1]) und von diesem im Verein mit *S. P. L. Sörensen*[2]) zur Bestimmung des absoluten Betrags der Aminosäuren und Polypeptiden im Harn benutzt worden, von *Henriques* und *Gjaldbaek*[3]) zu Untersuchungen über den Umfang der durch verschiedene Enzyme hervorgebrachten Proteolyse, wie auch zu Untersuchungen über synthetische Prozesse (Plasteinbildung) in der Eiweißgruppe.[4]) *W. Frey* und *A. Gigon*[5]) haben ebenfalls die Aminosäuren im Harn durch Formoltitration bestimmt und *E. Zunz*[6]) hat dieselbe zur Untersuchung von Mageninhalt benutzt, während *E. S. London* und seine Mitarbeiter[7]) die Verdauung in den verschiedenen Teilen des Verdauungskanals von Fistelhunden mittelst ihr verfolgen. *J. Browinski* und *S. Dombrowski*[8]) benutzen das Verfahren bei der Untersuchung von Oxyproteinsäuren in Harn.

E. Abderhalden und *Fr. Kramm*[9]) verwenden das Verfahren, um die Bestimmung des Aminostickstoffs nach *van Slyke*[10]) zu kontrollieren. Sie finden, daß diese letztere Methode den Vorteil der rascheren Ausführbarkeit, besonders bei stark gefärbten Flüssigkeiten, darbietet, bei der Untersuchung von komplizierteren Eiweißabbauprodukten aber nicht immer zuverlässig ist.

In einer etwas verschiedenen Richtung ist die Methode von *M. Javillier* und *B. Guérithault*[11]) zur Unterscheidung von Peptonen peptischen und tryptischen Ursprungs und von *F. Obermayer* und *R. Willheim*[12]) zur näheren Charakterisierung der Eiweißstoffe angewendet worden.

---

[1]) *V. Henriques*, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **60**. 1 (1909).

[2]) *V. Henriques* und *S. P. L. Sörensen*, ibid. **63**. 27 (1909) und **64**. 120 (1909).

[3]) *Henriques* und *Gjaldbaek*, ibid. **67**. 8 (1910) und **75**. 364 (1911).

[4]) *Henriques* und *Gjaldbaek*, ibid **71**. 485 (1911). Siehe auch *Abderhalden* und *Rona*, ibid. **67**. 405 (1910).

[5]) *W. Frey* und *A. Gigon*, Bioch. Zeitschr. **22**. 309 (1909).

[6]) *E. Zunz*, Intern. Beiträge z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen. Bd. 2. H. 3 und Bull. de la Soc. Royale des Sc. méd. et nat. de Bruxelles. Nr. 3 (1910).

[7]) *E. S. London*, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. **62**. 455 (1909), **74**. 305 und 309 (1911).

[8]) *J. Browinski* und *S. Dombrowski*, ibid. **77**. 92 (1912).

[9]) *E. Abderhalden* und *Fr. Kramm*, ibid. **77**. 428 (1912).

[10]) *van Slyke*, Journal of biol. Chemistry. IX. 185 (1911) und Ber. d. d. chem. Ges. **43**. 3170 (1910).

[11]) *M. Javillier* et *B. Guérithault*, Bull. des Sciences pharmacol. **17**. 63; Chem. Zentralbl. **81**. 1455 (1912).

[12]) *F. Obermayer* und *R. Willheim*, Bioch. Zeitschr. **38**. 331 (1912).

Weiter hat erst *Henriques* und *Sörensen*[1]) und später in größerem Maßstabe *Henriques* und *Gjaldbaek*[2]) eine Erweiterung der Methode, „die Formoltitration in Stadien", dazu benutzt, um über den Unterschied zwischen der peptischen und tryptischen Proteolyse wertvolle Aufschlüsse zu erhalten. Ganz kürzlich hat endlich *Johanne Christiansen*[3]) gezeigt, daß, wenn man eine Verdauungsflüssigkeit zu verschiedenen Zeiten einer Titrierung mit verschiedenen Indikatoren unterzieht, sie, um gegen Kongopapier neutral zu werden, immer dieselbe Menge Natron verlangt, während die Menge, welche notwendig ist, um Neutralität *Günzburgs* Reagens (eine alkoholische Lösung von Phloroglucin-Vanillin) gegenüber hervorzurufen, immerfort abnimmt. Die Differenz zwischen diesen zwei Zahlen ist gleich dem während des betrachteten Zeitintervalls entstandenen Zuwachs der Formoltitration. Es ist dadurch eine weitere Stütze der *Fischer-Sörensen*schen Ansicht über die Proteolyse erbracht worden, indem der unveränderte Kongotiter offensichtlich ein Zeichen dafür ist, daß während der Verdauung gleich viele Gruppen von saurem und basischem Charakter gebildet worden sind.

D. Die Ausführung der Formoltitration.

Die bei der Formoltitration notwendigen Operationen zerfallen in 1. die Vorbereitung der Lösung und 2. die eigentliche Formoltitration.

1. Vorbereitung der Flüssigkeiten.

Wenn man die Methode schlechthin zum Verfolgen einer Proteolyse benutzen will, dann ist, falls die Flüssigkeit nicht so stark gefärbt ist, daß Entfärbung notwendig wird, keine weitere Vorbereitung nötig. Man titriert einfach die Lösung vor und nach dem Ablauf bestimmter Zeitintervalle, und die dadurch gefundene Differenz ist, wie schon früher gesagt, als ein Maß der in dem betreffenden Intervall stattgehabten Verdauung anzusehen. Wenn man dagegen die in einer Flüssigkeit anwesende absolute Menge formoltitrierbaren Stickstoffes zu bestimmen wünscht, dann verfährt man folgendermaßen:

I. Neutralisation. Ist keine Phosphorsäure oder Kohlensäure vorhanden, so besteht die Vorbereitung einfach in einer möglichst genauen Einstellung auf die schwach saure Reaktion gegen Lackmuspapier[4])

[1]) *Henriques* und *Sörensen*, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **63**. 27 (1909).

[2]) *Henriques* und *Gjaldbaek*, ibid. **71**. 485 (1911) und **75**. 364 (1911).

[3]) *Johanne Christiansen*, Om Bestemmelse af fri og bunden Saltsyre i Maveindhold. Dissertation. Kjöbenhavn 1912.

[4]) Da es selbstverständlich von großer Bedeutung ist, daß das Lackmuspapier sowohl eine große Empfindlichkeit wie auch den richtigen Umschlagspunkt anzeigt, sollen hier die Bereitungs- und Prüfungsweise eines empfindlichen Lackmuspapiers nach *Henriques* und *Sörensen* (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. **64**. 133 [1910]) mitgeteilt werden:

0·5 *g* fein gepulverten Azolithmins werden in einer Schale in 200 cm^3 Wasser + 22·5 cm^3 n/10-Natronlauge gelöst und nach Filtrierung 50 cm^3 Alkohol zugesetzt.

(siehe S. 266). Man erreicht diese am genauesten, indem man eine Vergleichsflüssigkeit aus gleichen Teilen m/15 primäres Kaliumphosphat und m/15 sekundäres Natriumphosphat [1]) benutzt, welche eben dieselbe Wasserstoffionenkonzentration hat wie diejenige, welche als Ausgangspunkt der Formoltitrierung dient. Bringt man auf den Streifen Lackmuspapier gleichzeitig 1 Tropfen der Analysenflüssigkeit und 1 Tropfen der Vergleichsflüssigkeit dicht bei einander an, dann ist es leicht zu sehen, ob die beiden Flüssigkeiten gleich sauer sind, oder eventuell welche die sauerere ist.

II. Wegschaffen der Phosphor- und der Kohlensäure. Ist Phosphorsäure oder Kohlensäure zugegen, dann müssen dieselben erst weggeschafft werden:

A. Wenn wenig Ammoniak vorhanden ist:

In einen 100 *cm*³-Meßkolben werden 50 *cm*³ der zu analysierenden Flüssigkeit (z. B. Harn) abpipettiert und mit 1 *cm*³ Phenolphtaleinlösung (0·5 *g* Phenolphtalein in 50 *cm*³ Alkohol + 50 *cm*³ Wasser gelöst) und mit 2 *g* festem Baryumchlorid versetzt. Nach Umschütteln bis zur Lösung des Baryumchlorids wird eine gesättigte Lösung von Baryumhydroxyd bis zu roter Farbe und darauf noch 5 *cm*³ zugesetzt, wonach der Kolben bis zur Marke mit Wasser gefüllt wird. Nach gutem Umschütteln wird der Kolben 15 Minuten stehen gelassen, worauf man durch einen trockenen Filter filtriert.

80 *cm*³ des klaren roten Filtrats (40 *cm*³ der Analysenflüssigkeit entsprechend) werden in einen 100 *cm*³-Meßkolben gebracht, worauf die Flüssigkeit durch Zusatz von n/5-Salzsäure gegen dem Lackmuspapier neutralisiert und darauf mit ausgekochtem (kohlensäurefreiem!) Wasser bis auf 100 *cm*³ verdünnt wird.

In gleich großen Teilen der neutralen Flüssigkeit, z. B. in 40 *cm*³ (16 *cm*³ der Analysenflüssigkeit entsprechend) bestimmt man teils das Ammoniak, teils die formoltitrierbare Stickstoffmenge:

B. Viel Ammoniak vorhanden:

Wie oben unter *A* beschrieben, werden in einem 100 *cm*³-Meßkolben 50 *cm*³ Analysenflüssigkeit mit Phenolphtalein, Baryumchlorid und Baryumhydroxyd behandelt und bis zu 100 *cm*³ ergänzt. Aus 80 *cm*³ des klaren,

Durch diese Lösung werden Streifen guten aschenarmen Filtrierpapiers gezogen und auf Schnüren getrocknet, was ungefähr eine Stunde in Anspruch nimmt.

Das Papier muß den *Sörensen*schen Phosphatlösungen (siehe Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. 8. 1 und 396 und Bioch. Zeitschr. **21.** 175 und **22.** 355 [1909]; auch Handbuch der bioch. Arbeitsm. V 2. 1095) gegenüber sich auf die folgende Weise verhalten:

"3sek + 7prim" ($p_{H^{\cdot}}$ = 6·47) : schwach saure Reaktion,
"5sek + 5prim" ($p_{H^{\cdot}}$ = 6·81) : neutrale Reaktion,
"7sek + 3prim" ($p_{H^{\cdot}}$ = 7·77) : schwach alkalische Reaktion.

Sollte es geschehen, daß eine dargestellte Probe Lackmuspapier den Phosphatlösungen gegenüber nicht nach Wunsch reagiert, muß die der Azolithminlösung zugesetzte Natronmenge in entsprechender Weise geändert werden.

[1]) Siehe das Zitat in der obenstehenden Note.

roten Filtrats (40 *cm*³ der ursprünglichen Flüssigkeit entsprechend) wird das Ammoniak im Vakuum abdestilliert[1]) und eventuell bestimmt. Der Destillationsrückstand wird in dem Kolben in einigen Kubikzentimetern zirka normaler Salzsäure gelöst, worauf unter Evakuierung kohlensäurefreie Luft hindurchgezogen wird, um eine eventuelle Spur von Kohlensäure auszutreiben. Darauf wird die salzsaure Lösung quantitativ mittelst kohlensäurefreien Wassers (daher nicht unter Benutzung der Spritzflasche) in einen 100 *cm*³-Meßkolben übergeführt. Die Flüssigkeit wird nun gegen dem Lackmuspapier neutralisiert (am besten durch Zutröpfeln von kohlensäurefreier, zirka normaler Natronlauge bis zu schwach roter Farbe und darauf folgender Zusatz von n/5-Salzsäure bis zu neutraler Reaktion auf dem Lackmuspapier); schließlich wird mit kohlensäurefreiem Wasser bis zur Marke nachgefüllt. In einer passenden Menge, z. B. 40 *cm*³, der neutralen Lösung (16 *cm*³ der ursprünglichen Flüssigkeit entsprechend) wird dann die Formoltitrierung ausgeführt.

(Falls wesentliche Mengen anderer schwachen Säuren als die hier erwähnten, welche einen Gehalt an Aminosäuren vortäuschen könnten, gegenwärtig sein sollten, so muß die Beseitigung oder Unschädlichmachung derselben zum Gegenstand einer besonderen Untersuchung gemacht werden.)

III. Entfärbung. Eine solche wird, wie früher gesagt, gewöhnlich notwendig sein, wenn man es mit Produkten von Säurespaltungen, besonders den der Salzsäure, zu tun hat, wie es u. a. bei der Bestimmung noch vorhandener Peptidbindungen der Fall sein wird. Nach Versuchen von *S. P. L. Sörensen* und *H. Jessen-Hansen*[2]) gelingt es leicht und einfach, eine solche Entfärbung durch Bildung eines einigermaßen reichlichen Niederschlags von Chlorsilber in der passend sauren Lösung zu erzielen. Das Chlorsilber reißt die färbenden Bestandteile mit sich nieder, und das Filtrat zeigt eine hellgelbe Farbe, die der Wahrnehmung des Endpunkts der Titrierung keine Hinderung macht. Bei der Formoltitrierung dürfen Silbersalze natürlich nicht anwesend sein, und man muß daher, etwa durch Zugabe von ein paar Kubikzentimeter starker Baryumchloridlösung, dafür Sorge tragen, daß ein Überschuß an Chloriden immer vorhanden ist. Man verfährt demnach wie folgt:

Liegt eine passend saure Flüssigkeit vor (d. h. in bezug auf Säuregehalt ungefähr n/10, eventuell durch Titrierung gegen Lackmuspapier zu ermitteln), werden 25 *cm*³ derselben in einen 50 *cm*³-Meßkolben gebracht. Ist die vorliegende Lösung nicht passend sauer, nimmt man nur 20 *cm*³, und es werden je nach den Umständen z. B. 5 *cm*³ n/2-Salzsäure bzw. Natronlauge zugesetzt. Liegt ein fester Stoff vor, wird

[1]) Die Abdestillation des Ammoniaks geschieht am besten unter Zusatz einer methylalkoholischen Lösung von Baryumhydroxyd in dem von *M. Krüger* und *O. Reich* (Zeitschr. f. physiol. Chemie. **39**. 170) angegebenen und von *Henriques* und *Sörensen* (ibid. **64**. 137) modifizierten Apparat durch Erwärmen in Wasser von 40° C und Evakuieren mittelst einer Wasserstrahlpumpe.

[2]) *S. P. L. Sörensen* und *H. Jessen-Hansen* l. c.

eine passende Menge (1—3 *g*) in dem Meßkolben in 25 *cm*³ n/10-Salzsäure gelöst.

Danach werden zirka 4 *cm*³ zirka 2/n-Baryumchloridlösung (244 *g* reines $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$ in 1 *l* Lösung) zugesetzt und darauf nach und nach, unter gutem und oft wiederholtem Schütteln (die letzten Male muß der Kolben während des Schüttelns geschlossen werden) zirka 20 *cm*³ zirka n/3-Silbernitratlösung (56·7 *g* reines $AgNO_3$ in 1 *l* Lösung), am besten aus einem kleinen Meßzylinder, zugetröpfelt. Wenn der gebildete Schaum nach kurzem Stehen sich gesetzt hat, wird kohlensäurefreies Wasser bis zur Marke zugesetzt (und überdies, wenn man einen kleinen Fehler vermeiden will, noch 4 Tropfen Wasser, deren Volumen des von 20 *cm*³ n/3-Silbernitratlösung herrührenden Silberchlorids entspricht).

Nach gutem Schütteln wird durch ein gewöhnliches 11 *cm*-Filter filtriert, indem man darauf achtet, möglichst viel von dem Niederschlag auf das Filter zu bringen. Das im Anfang trübe Filtrat wird vorsichtig auf das Filter wieder gegossen. Mit einer passenden Menge (15—30 *cm*³) des völlig klaren Filtrats wird dann, nach vorherigem Neutralisieren gegen das Lackmuspapier, die Formoltitrierung ausgeführt.

2. Die eigentliche Titrierung.

Die für die Operation notwendigen Lösungen sind:

a) Eine n/5-Lösung von Natriumhydroxyd (oder Baryumhydroxyd. Über die Vor- und Nachteile dieser zwei Lösungen siehe: *S. P. L. Sörensen*, Bemerkungen über die Formoltitrierung, insbesondere über die Anwendung von Natronlauge oder Barytlauge bei derselben[1]). Man versuche nicht mit n/10-Lösung zu arbeiten; der Verbrauch wird wohl doppelt so groß sein, die Genauigkeit aber entschieden geringer werden.

b) Eine n/5-Lösung von Salzsäure.

c) Eine Lösung von 0·5 *g* Phenolphtalein in 50 *cm*³ Alkohol + 50 *cm*³ Wasser.

d) Eine Formollösung, die für jede Versuchsreihe frisch zubereitet sein muß; 50 *cm*³ käuflichem Formol (30—40%igem) wird 1 *cm*³ Phenolphtaleinlösung und danach n/5-Natronlauge bis zum ganz schwachen rosa Farbton zugesetzt.

Die Titration nimmt man am besten vor in 20 *cm*³ der betreffenden Flüssigkeit, welche in bezug auf Stickstoff etwa n/10 ist, oder, wenn nur wenig formoltitrierbarer Stickstoff vorhanden ist, etwas stärker.

Um den Endpunkt der Titrierung scharf zu erkennen und um den Einfluß der Formollösung zu eliminieren, benutzt man eine Kontroll- oder Vergleichslösung, welche folgendermaßen herzustellen ist. Zu 20 *cm*³ ausgekochtem, destilliertem Wasser werden zuerst 10 *cm*³ der Formolmischung

[1]) *S. P. L. Sörensen,* Biochem. Zeitschr. 25. 1 (1910).

und danach ungefähr halb so viel Natronlauge, wie bei der eigentlichen Bestimmung zu verwenden ist, zugesetzt. Dann wird mit n/5-Salzsäure zurücktitriert[1]), bis die Flüssigkeit nach gutem Schütteln eben einen schwachen rosa Farbton zeigt (erstes Stadium der Titration), und jetzt 1 Tropfen n/5-Lauge zugegeben, wodurch die Flüssigkeit eine deutliche rote Farbe annimmt (zweites Stadium).

Die zur Untersuchung vorliegenden Lösungen werden zuerst bis zu dieser letzten Farbenstärke titriert, indem zu 20 *cm*³ der Analyse 10 *cm*³ der Formolmischung zugesetzt werden, und gleich darauf n/5-Lauge, bis die Färbung stärker als die der Kontrollösung erscheint; dann wieder n/5-Salzsäure, bis die Färbung schwächer als die der Kontrollösung geworden ist, und schließlich Lauge zugetröpfelt, bis die Farbstärke der Kontrollösung genau erreicht ist.

Wenn alle vorliegenden Lösungen auf diese Weise titriert worden sind (Phenolphtalein, zweites Stadium), werden der Kontrollösung weiter 2 Tropfen Lauge zugefügt, wodurch sie eine stark rote Farbe annimmt. Die Titrierungen der Analysen werden dann beendet, indem jeder Lösung Lauge zugetröpfelt wird, bis die stark rote Farbe der Kontrollösung erreicht worden ist (Phenolphtalein, drittes Stadium). Selbstverständlich kann man auch sofort zum dritten Stadium titrieren.

Wenn man statt des Phenolphtaleins Thymolphtalein als Indikator zu gebrauchen wünscht, dann ist statt der oben unter *c)* und *d)* aufgeführten Flüssigkeiten zu benutzen:

e) Eine Lösung von 0·5 *g* Thymolphtalein (*C. Grübler & Co.*, Leipzig) in 1 *l* 93%igem Alkohol, und

f) eine Formolmischung, die jedesmal folgendermaßen frisch zu bereiten ist: Zu 50 *cm*³ Handelsformol werden 25 *cm*³ absoluter Alkohol, 5 *cm*³ Thymolphtaleinlösung und schließlich n/5-Lauge bis zum schwach grünlichen oder bläulichen Farbton zugefügt.

Als Kontrollösung werden auch hier 20 *cm*³ ausgekochtes Wasser verwendet. Es werden zuerst 15 *cm*³ der Formolmischung und etwa die halbe Menge Lauge wie bei den Analysen zugesetzt und dann mit n/5-Salzsäure zurücktitriert, bis die Lösung bläulich opaleszierend erscheint. Dann werden 2 Tropfen Lauge, wodurch die Lösung eine deutliche blaue Farbe annimmt, und schließlich noch 2 Tropfen Lauge zugegeben, wodurch eine schöne und starke blaue Farbe erreicht wird.

Bis zu dieser letzten Farbenstärke werden die Analysen titriert, indem 20 *cm*³ der zu untersuchenden Lösung 15 *cm*³ Formolmischung und gleich darauf ein kleiner Überschuß an Lauge (siehe bei der Phenolphta-

[1]) Die Zugabe dieser Menge von Lauge zu der Kontrollösung mit nachfolgender Rücktitration ist deshalb notwendig, weil das Volum der Kontrollösung das gleiche sein muß wie dasjenige, in welchem die Titration zu Ende geführt wird. Wird für die Analyse ein anderes Volum als 20 *cm*³ benutzt, muß die Kontrollösung entsprechend bemessen sein.

leintitrierung) zugesetzt werden. Nach Rücktitrierung mit Salzsäure, bis die Farbe schwächer als die der Kontrollösung erscheint, wird schließlich Lauge zugetröpfelt, bis die Farbe der Kontrollösung genau erreicht worden ist.

3. Beispiele.

1. Verfolgung einer Enzymspaltung. Zur Untersuchung kam eine Lösung, bestehend aus 125 *cm*³ einer 4%igen Witte-Peptonlösung + 75 *cm*³ einer 0·2%igen Pankreatinlösung, mit Wasser auf 250 *cm*³ ergänzt. 20 *cm*³ der Flüssigkeit enthielten 52·00 *mg* Gesamtstickstoff.

Die Kontrollösung bestand aus 20 *cm*³ ausgekochtem Wasser + 10 *cm*³ neutralisierter Formollösung + 2 Tropfen Bismarckbraun (S. 267).

Bei der sofort nach der Zubereitung vorgenommenen Titrierung wurde verbraucht:

Kontrolle:	1·50 *cm*³ n/5 NaOH	Analyse (20 *cm*³):	3·50 *cm*³ n/5 NaOH
−	1·40 „ „ HCl		0·45 „ „ HCl
	0·10 *cm*³ n/5 NaOH		3·05 *cm*³ n/5 NaOH
		Kontrolle =	0·10 „ „ „
		Verbrauch =	2·95 *cm*³ n/5 NaOH

1 *cm*³ n/5-Natron entspricht 2·8 *mg* Stickstoff und die 2·95 *cm*³ entsprechen demnach 8·26 *mg*, d. h. 15·9% des Totalstickstoffs, welche als formoltitrierbarer Stickstoff vorhanden sind.

Nach 30 Stunden wurde in derselben Weise verbraucht: 5·85 *cm*³ n/5-Natron, 16·38 *mg* N oder 31·5% des Totalstickstoffs entsprechend.

Nach 150 Stunden ebenfalls: 7·30 *cm*³ n/5-Natron, 20·44 *mg* N oder 39·3% des Totalstickstoffs entsprechend.

Während der ersten 30 Stunden der Verdauung sind somit Peptidbindungen gelöst worden, welche 31·5 − 15·9 = 15·6% des Gesamtstickstoffs entsprechen, und in den folgenden 120 Stunden noch 39·3 − 31·5 = 7·8% des Totalstickstoffs aus Peptidbindungen freigemacht worden.

2. Bestimmung von Ammoniak und Aminosäuren im Harn. Eine Harnprobe mit 1·0% Gesamtstickstoff war durch Behandlung mit Baryumchlorid und Baryumhydroxyd, Filtrieren und nachfolgendes Neutralisieren (s. S. 270) 2·5fach verdünnt worden. 40 *cm*³ der Flüssigkeit (16 *cm*³ Harn enthaltend) verbrauchten bei der Formoltitration 4·00 *cm*³ n/5-Natron, enthielten demnach 11·2 *mg* formoltitrierbaren Stickstoff, und 40 andere *cm*³ enthielten 8·43 *mg* Stickstoff in Form von Ammoniak, somit Aminosäurestickstoff in 16 *cm*³ Harn = 11·2 — 8·43 = 2·77 *mg* = 1·7% des Gesamtstickstoffs.

3. Bestimmung von formoltitrierbarem + peptidgebundenem Stickstoff im Harn. Ein Hundeharn mit 6·82% Totalstickstoff wurde wie oben mit Baryumchlorid usw. behandelt und das Ammoniak abdestilliert (s. S. 270). Eine 16 *cm*³ des Harns entsprechende Menge ver-

brauchte bei der Formoltitration 2·45 *cm*³ n/5-Natron, 6·86 *mg* N = 6·3% des Totalstickstoffs entsprechend. Nach Kochen mit Salzsäure und Austreibung des Ammoniaks, Neutralisation usw. wurde von der entsprechenden Menge verbraucht: 4·2 *cm*³ n/5-Natron, 11·76 *mg* N entsprechend. Es ist somit 11·76 — 6·86 = 4·90 *mg* N = 4·5% des Gesamtstickstoffs als peptidgebundener Stickstoff vorhanden gewesen.

4. Bestimmung des Spaltungsgrades eines proteolytischen Abbauproduktes. Als ein Maß des Spaltungsgrades eines proteolytischen Abbauproduktes kann man die vorhandene Menge formoltitrierbaren Stickstoffs ausgedrückt in Prozenten der Menge formoltitrierbaren Stickstoffes, welche nach der vollständigen Proteolyse vorhanden sein würde, betrachten.[1])

Eine zirka 4%ige Lösung von Witte-Pepton enthielt in 5 *cm*³ 13·44 *mg* formoltitrierbaren Stickstoff. Nach zwölfstündigem Kochen mit Salzsäure wurde gefunden: 44·94 *mg*. Es war demnach ursprünglich als formoltitrierbarer Stickstoff vorhanden: (13·44/44·94) 100 = 29·4% von der Menge, welche überhaupt entstehen konnte, indem die genannte Behandlung nach den zitierten Verfassern hinlänglich ist, um die gesamten Peptidbindungen zu lösen.

Anhang.

Formoltitration „in Stadien".

Durch die Formoltitration „in Stadien", wie sie von *Henriques* und *Sörensen*[2]) und von *Henriques* und *Gjaldbaek*[3]) ausgearbeitet ist, ermittelt man das Verhältnis zwischen den Mengen von Lauge, welche notwendig sind, um die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung von dem lackmusneutralen Punkt zu verschieben bis zu den zwei Konzentrationen, welche einerseits durch das eben wahrnehmbare Röten des Phenolphtaleins und andrerseits durch das starke Rot desselben Indikators angegeben werden, sowohl vor als auch nach dem Zusatz von Formol. Die in dieser Weise ermittelten Verhältnisse benutzen die genannten Forscher dann dazu, verschiedenen Schlußfolgerungen über die Natur und die Verschiedenheiten der in den titrierten Flüssigkeiten vorhandenen Körper zu ziehen.[4])

Das Verfahren ist folgendes:

---

[1]) Siehe: *Henriques* und *Gjaldbaek*, Über quantitative Bestimmung der in Proteine oder in dessen Abbauprodukten vorhandenen Peptidbindungen. Zeitschr. f. physiol. Chemie. **67**. 8 (1910).

[2]) *Henriques* und *Sörensen*, ibid. **63**. 27 (1909).

[3]) *Henriques* und *Gjaldbaek*, ibid. **75**. 363 (1911).

[4]) Nach dem in der Note S. 264 Entwickelten sind es Körper mit verschiedener Dissoziationskonstante, welche in dieser Weise titriert werden, und es ist kaum zu bezweifeln, daß das Verfahren durch Heranziehen anderer Indikatoren mit anderen Umschlagsgebieten sich erweitern und verbessern läßt.

Die auf Lackmusneutralität gebrachte Probe wird mit Phenolphtalein und dann mit n/5-Natron bis zum eben wahrnehmbaren roten Schein versetzt und das verbrauchte Quantum Natronlauge notiert. Erstes Stadium. Jetzt mehr Natron bis zur stark roten Farbe (Farbe der Kontrollösung) zugegeben und die Menge notiert. Zweites Stadium. Nun wird die neutralisierte Formollösung zugegeben, wodurch die Flüssigkeit wieder sauer wird, und nochmals n/5-Natron zugetröpfelt bis zum eben wahrnehmbaren roten Schein und notiert. Drittes Stadium. Endlich wird Natron, bis die Farbe der Kontrollösung wieder erreicht ist, zugesetzt und notiert. Viertes Stadium.

Beispiel: 5. Zur Untersuchung kam eine Lösung, bestehend aus 20 *g* getrocknetem Eiweiß + 0·25 *g* Pepsin + 1000 *cm*³ n/10 HCl.

Nach 3tägigem Stehen wurde eine Menge von der Lösung, welche 100 *mg* Gesamtstickstoff enthielt, gegen Lackmuspapier neutralisiert und mit Phenolphtalein versetzt, wonach sie verlangte

zum eben wahrnehmbaren Röten . . . . . 2·30 *cm*³ n/5 NaOH

Erstes Stadium = 2·30 *cm*³ n/5 NaOH

zur stark roten Farbe noch . . . . . . 0·60 „ „ „

Zweites Stadium = 2·90 *cm*³ n/5 NaOH

Nach Zugabe von neutralisiertem Formol
zum eben wahrnehmbaren Röten noch . 1·70 „ „ „

Drittes Stadium = 4·60 *cm*³ n/5 NaOH

und zur stark roten Farbe noch . . . . 0·48 „ „ „

Viertes Stadium = 5·08 *cm*³ n/5 NaOH

Kontrolle = 0·16 „ „ „

Viertes Stadium — Kontrolle = 4·92 *cm*³ n/6 NaOH

$$\text{Verhältnis:} \left| \frac{\text{1. Stadium}}{\text{4. Stadium — Kontrolle}} \right| = 2{\cdot}3 : 4{\cdot}92 = 1/2{\cdot}1.$$

Dieses Verfahren wurde dann nach verschieden langen Zeiten wiederholt. Von den Resultaten seien nur die folgenden angeführt:

	Auf 100 *mg* Gesamt-N wurde verbraucht *cm*³ n/5 NaOH					1 : (4 — K)
	1	2	3	4	K	
Nach 3tägigem Stehen	2·3	2·9	4·6	5·08	0·16	1 : 2·1
„ 15 „ „	2·7	3·4	5·7	6·35	0·16	1 : 2·3
„ Zusatz von 0·25 *g* Pepsin .	2·7	3·3	5·7	6·35	0·16	1 : 2·3
„ 30tägigem Stehen	3·2	4·3	7·1	7·54	0·16	1 : 2·3
„ weiterem Zusatz von 1 *g* Pepsin und 107tägigem Stehen	4·95	6·60	10·95	11·55	0·16	1 : 2·3

In ähnlicher Weise wurde untersucht:

Eine Lösung von 20 *g* desselben Eiweißes + 0·20 *g* Pankreatin + 20 *cm*³ n/5-Natron + 980 *cm*³ Wasser. Von den Resultaten seien hier mitgeteilt:

	Auf 100 *mg* Gesamt-N wurde verbraucht cm^3 n/5 NaOH					1 : (4 — K)
	1	2	3	4	K	
Sogleich	0·44	0·56	1·78	2·19	0·13	1 : 4·7
Nach 8tägigem Stehen bei 37°	1·13	1·88	6·50	6·88	0·13	1 : 6·0
„ 62 „ „ „ „	2·20	5·13	20·48	21·13	0·13	1 : 9·5
„ 73 „ „ „ „	2·05	4·60	20·86	21·63	0·13	1 : 10·5

Eine Vergleichung der letzten Stäbe der zwei Tabellen zeigt sogleich den auffallenden Unterschied zwischen den zwei Prozessen, daß das Verhältnis: 1/(4 — K) während der peptischen Verdauung unverändert bleibt, im Gegensatz zur tryptischen, wo es eine stete Abnahme zeigt. Daraus und aus vergleichenden Versuchen mit reinen Aminosäuren und Polypeptiden, schließen nun die Verfasser, daß durch die peptische Verdauung lediglich Polypeptide gebildet werden, während die tryptische die Bildung von Aminosäuren in großen Mengen herbeiführt. Im übrigen sei auf die zitierten Abhandlungen, sowie auf *S. P. L. Sörensen*, Über die Messung und Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei biologischen Prozessen (Ergebnisse der Physiologie. **12**. S. 480) verwiesen.

Die quantitative Bestimmung von aliphatischen Aminogruppen.

Von **Donald D. van Slyke,** New-York.

In diesem Handbuch wurde Bd. V, S. 995 ein Apparat beschrieben, der gestattet, den aliphatischen Aminostickstoff durch Messen des nach folgender Gleichung entwickelten Stickstoffgases zu bestimmen:

$$RNH_2 + HNO_2 = ROH + N_2 + H_2O.$$

Dieser Apparat ist seitdem wesentlich verbessert worden. Die neue Form besitzt gegenüber der ursprünglich angegebenen mannigfache Vorzüge, ohne aber im Vergleich zu dem früheren Apparat kompliziertere Manipulationen, eine Erhöhung des Preises [1]) oder irgend eine Verminderung an Genauigkeit der damit zu erhaltenden Resultate aufzuweisen. Ganz besondere Vorteile bietet die neuerdings angebrachte mechanische Schüttelvorrichtung, die sowohl für eine vollständige Entwicklung des Stickstoffgases, als auch für die völlige Absorption des Stickoxyds Gewähr leistet, die ferner ein schnelleres Arbeiten gestattet und so besonders zur Ausführung von Analysenserien geeignet ist. Außerdem können bei der neuen Form bequem die aufgebrauchten Lösungen nach jeder Analyse entfernt werden; ferner kann der Apparat gereinigt und die nächste Analyse begonnen werden, ohne daß irgend ein Auseinandernehmen der einzelnen Apparatenteile erforderlich ist.

Die Zusammensetzung des neuen Apparates und die Art und Weise, in welcher er zusammengestellt wird, ist aus der beigegebenen Skizze und folgender Photographie ersichtlich.

Das Gefäß *D* faßt 40—45 cm^3, *A* ungefähr 35 cm^3 und die Bürette *B* 10 cm^3. Das Desaminierungsgefäß *D* muß mit einem straffen Draht so fest von oben aufgehängt sein, daß die Drahtschlinge um das Kapillarrohr herum wie ein festes Zentrum wirkt. Das Gefäß *A* ist so angebracht, daß sein Schwerpunkt sich diesem Zentrum nähert. Das Gefäß *D* kann dann bereits durch eine geringfügige Bewegung von *A* ins Schütteln versetzt werden. Infolgedessen wird das Verbindungsrohr von *A* zu *D*

---

[1]) *Robert Goetze,* Leipzig, Härtelstr. 4, liefert die Glasteile für ungefähr 28 M.; *Emil Greiner,* New-York, Cliff Str. 45, für 10 $.

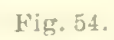
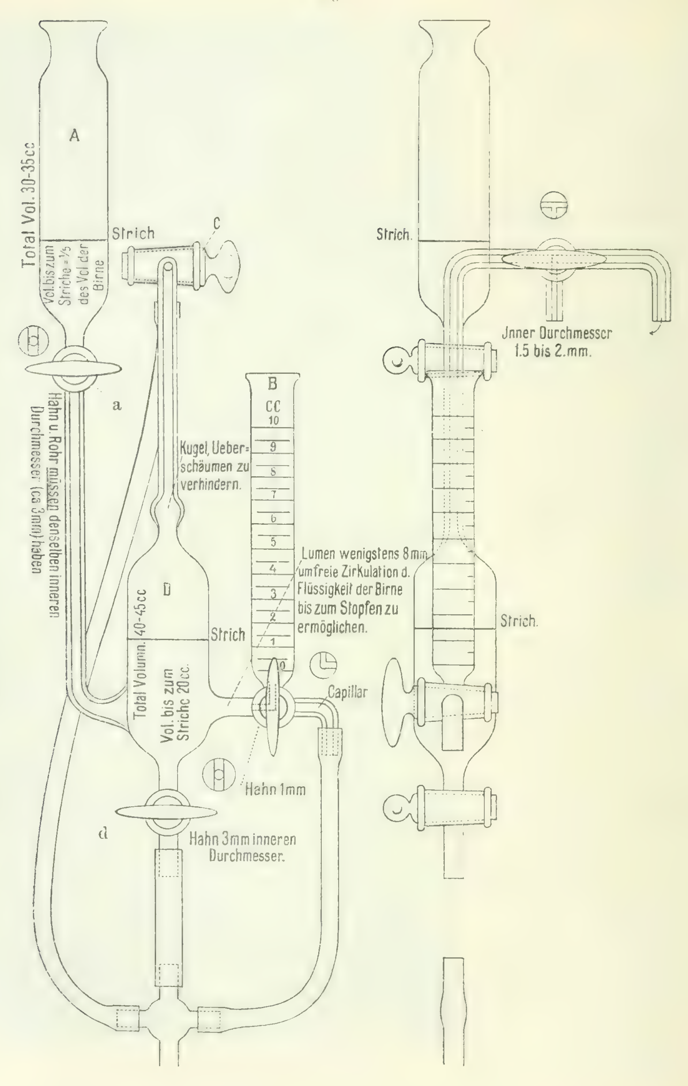


Fig. 54.

durch Spannung oder Druck nicht gefährdet. Das Verbindungsrohr von *A* zu *D* sei möglichst dickwandig. Sein innerer Durchmesser betrage 3 *mm.* Es ist wichtig, daß die Bohrweite am Hahne *a* ebenfalls 3 *mm* mißt, und zwar aus folgendem Grunde: Während der Analyse sammelt sich das Gas, das auch etwas Stickstoff enthält, in dem erwähnten Verbindungsrohre an. Wenn nun die Durchgangsöffnung des Hahnes *a* nicht ebensoweit wie der innere Durchmesser des Rohres ist, so kann die Flüssigkeit in *A* am Ende der Reaktion in die Höhe steigen, anstatt nach *D* gedrängt zu werden. Der Hahn *d* soll ebenfalls eine möglichst weite Bohrung besitzen, um die Entleerung des Gefäßes *D* zu erleichtern. Das Verbindungsstück von *D* zu *B* muß mindestens 8 *mm* inneren Durchmesser haben, damit die Lösung von *D* bequem bis zum Hahn von *B* zirkulieren kann. Das Gefäß *D* besitzt oben, nachdem die Birne sich bereits verjüngt hat, noch eine kugelartige Er-

Fig. 55.


A
Total Vol. 30-35cc
Strich
c
Vol. bis zum Striche = 1/5 des Vol der Birne
a
Hahn u. Rohr müssen denselben inneren Durchmesser (ca 3mm) haben
B
CC
Kugel, Ueberschäumen zu verhindern.
Lumen wenigstens 8mm um freie Zirkulation d. Flüssigkeit der Birne bis zum Stopfen zu ermöglichen.
D
Total Volumn. 40-45cc
Strich
Vol. bis zum Striche 20cc.
Capillar
Hahn 1mm
d
Hahn 3mm inneren Durchmesser.
Strich.
Jnner Durchmesser 1.5 bis 2.mm.
Strich.

weiterung. Diese Vorrichtung soll ein Verspritzen der Flüssigkeit in das sich anschließende Kapillarrohr verhindern.

Um zu vermeiden, daß die Hähne undicht oder bei heftigem Schütteln lose werden, reibt man sie vorteilhaft mit einer Paste ein, die aus 1 Teil Gummi, 1 Teil Paraffin und 2 Teilen Vaseline durch Erhitzen über einer Flamme hergestellt wird.

Die Form der neuen abgeänderten *Hempel*schen Pipette ist deutlich aus der Fig. 54, S. 279 zu ersehen. Die Anwendung dieser Form wird zweifellos für die Absorption bei allen Gasanalysen, bei denen Schütteln nötig ist, von Vorteil sein.

Die Triebwelle, die auf der Photographie ersichtlich ist, wird so angebracht, daß man mit ihrer Hilfe abwechselnd sowohl das Desaminierungsgefäß *D* als auch die *Hempel*sche Pipette schütteln kann. Die Abbildung zeigt die Triebstange so gestellt, daß das Desaminierungsgefäß geschüttelt werden kann. Durch Hochheben der Triebstange von der Stütze von *D* und durch Anlegen des anderen Hakens am Ende der Stange, über das horizontale, tiefer gelegene Rohr der Pipette wird die Schüttelwirkung auf letztere übertragen.

Wenn die Klammer am Ende der Triebstange und der Haken, an dem die *Hempel*sche Pipette aufgehängt wird, mit kleinen Stückchen Gummischlauch überzogen sind, so arbeitet der Apparat fast geräuschlos. Als Triebkraft kann man einen guten Wassermotor verwenden; vorteilhafter bedient man sich jedoch eines kleinen elektrischen Motores, und zwar am besten eines solchen, der mit einem Widerstand, der 3 oder 4 Geschwindigkeiten ermöglicht, versehen ist. Das Triebwerk soll so eingestellt sein, daß die Triebwelle 300—500 Umdrehungen in der Minute macht. Die Triebstange, welche an der Triebwelle exzentrisch angebracht ist, soll sich ungefähr 1·5 *cm*, keinesfalls aber mehr als 2 *cm* von dem Mittelpunkt der Welle entfernt befinden.

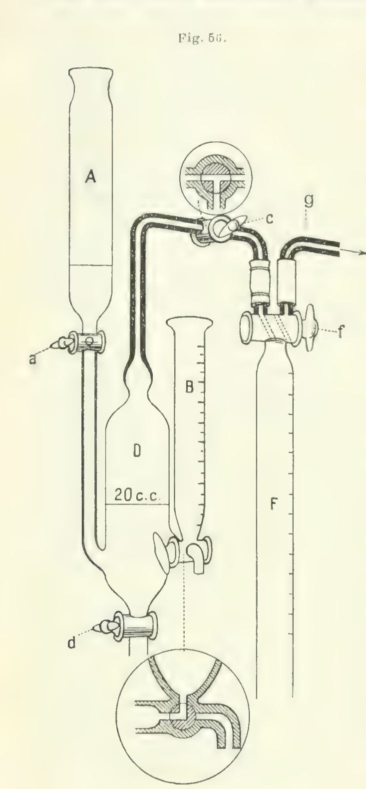
Die Ausführung der Analyse vollzieht sich im Prinzip in der bereits in diesem Handbuch (Bd. V, S. 999—1001) beschriebenen Weise. Wenn auch auf Grund der etwas abgeänderten Form des Apparates kleine Modifikationen gegenüber dem früheren Verfahren vorzunehmen sind, so können wir bei Beschreibung der Analyse doch dem im vorigen Jahre gegebenen Bestimmungsgang folgen und wiederum drei Phasen unterscheiden.

1. Vertreibung der Luft durch Stickoxyd.

Wasser von *F* füllt sowohl die Kapillare *G* als auch die andere Kapillare bis *c*. *A* enthält soviel Eisessig, daß ein Fünftel des Volumens von *D* gefüllt werden kann. Zur Bequemlichkeit ist dieses Volumen in *A* mit einer Marke angezeigt. Den Eisessig läßt man in *D* einfließen, während der Hahn *c* offen ist, damit die Luft aus *D* entweichen kann. Dann füllt man in *A* die Natriumnitritlösung ein (die in 100 cm^3 Wasser 30 *g* $NaNO_2$ enthält), und zwar läßt man davon soviel einfließen, daß das Gefäß *D* vollständig und schließlich noch ein kleines Volumen über

Hahn *a* gefüllt wird. Das aus *D* vertriebene Gas wird dabei bei *c* eingeschlossen. *D* wird nun, während *a* geöffnet ist, einige Sekunden lang geschüttelt. Das Stickoxyd, das sich dabei augenblicklich ansammelt, läßt man dann bei *c* austreten. Hierauf wird das Schütteln wiederholt. Die dabei neu entstandene Menge Stickoxyd, die ebenfalls durch *c* entweicht, beseitigt die letzten Spuren von Luft. Nun bringt man *D* mit dem Motor in Verbindung und läßt so lange schütteln, bis nur noch 20 cm^3 Lösung in *D* zurückbleiben. Dieses Volumen ist durch eine an *D* angebrachte Marke angezeigt. Hierauf schließt man den Hahn *a* und stellt *c* und *f* so, daß die Verbindung zwischen *D* und *F* hergestellt wird. Die Ausführung der erwähnten Handhabungen beansprucht ein bis zwei Minuten.

Fig. 56.



2. Zersetzung der Aminosubstanz.

Von der zu analysierenden Aminosubstanzlösung mißt man, je nach den vorliegenden Bedingungen, 10 cm^3 oder weniger in dem graduierten zylindrischen Gefäß *B* ab. Hat man versehentlich die Flüssigkeit bis über die obere Marke *(10)* gefüllt, so kann man den Überschuß durch das Ausflußrohr ablassen. Die gewünschte Menge Lösung läßt man dann in das Gefäß *D* einfließen, das bereits mit dem Motor, wie es auf Fig. 54 gezeigt ist, in Verbindung steht. Nun läßt man schütteln. Liegen α-Aminosäuren zum Analysieren vor, so genügt 3—4 Minuten dauerndes Schütteln. Handelt es sich um Proteine, um partiell oder vollständig hydrolysierte Eiweißstoffe, so dürfte die Reaktion nach 5 Minuten kräftigen Schüttelns beendet sein.[1] Nur in solchen Fällen, wo native Eiweißkörper vorliegen, die beim Desamidieren grobe Koagula erzeugen, welche beim Durchschütteln der Mischung störend wirken, kann es nötig sein, längere Zeit zu schütteln. Falls zum Analysieren eine visköse Flüssigkeit vorliegt

[1] Vom Lysin reagiert in 5 Minuten nur 95% des Stickstoffs; der zurückbleibende Teil, $^1/_{20}$ des Lysinstickstoffs, ist jedoch in bezug auf den Totalstickstoff eines Gesamtproteins eine praktisch zu vernachlässigende Menge.

und Gefahr besteht, daß die Lösung in *F* überschäumt, so fügt man durch *B*, nachdem man daraus die Flüssigkeit hat auslaufen lassen, etwas Oktylalkohol[1]) hinzu. Für solche Aminosubstanzen, wie z. B. für Aminopurine, die länger als 5 Minuten zur Reaktion erfordern (vgl. d. Handbuch, Bd. V, S. 1001), mischt man die zu reagierenden Lösungen vollständig durch und läßt dann die erforderliche Zeit stehen. Hierauf schüttelt man ungefähr 2 Minuten lang, um den Stickstoff völlig aus der Lösung zu vertreiben.

Liegt zum Analysieren eine Lösung vor, von der man weiß, daß sie heftig schäumt, so fügt man am besten durch *B*, noch vor Einfüllen der Aminosubstanzlösung, etwas Oktylalkohol hinzu. Das Meßgefäß *B* wird dann mit Alkohol ausgespült, mit Äther oder mit etwas Filtrierpapier getrocknet und dann mit der zu analysierenden Lösung gefüllt.

3. Absorption des Stickoxyds und Messen des Stickstoffs.

Sobald die Reaktion beendet ist, wird das Gas in *D* durch Hinzulassen von Flüssigkeit aus *A* nach *F* getrieben und das Gemisch von Stickstoff und Stickoxyd dann aus *F* in die Adsorptionspipette übergeführt. Die Treibstange wird dann mit der Pipette verbunden und diese nun eine Minute lang durch den Motor geschüttelt. Diese Zeit genügt auch bei einer schon ziemlich aufgebrauchten Permanganatlösung zur vollständigen Absorption des Stickoxyds. Der reine Stickstoff wird dann in *F* gemessen. Während der letzterwähnten Operationen ist der Hahn *a* geöffnet, damit während der Bildung von Stickoxyd in *D* Flüssigkeit aus *D* entweichen kann.

Prüfung auf Vollständigkeit der Reaktion.

Besonders bei Gebrauch der mechanischen Schüttelvorrichtung ist manchmal zu befürchten, daß keine vollständige Stickstoffentwicklung statthat. Man kann sich hierüber leicht in folgender Weise Gewißheit verschaffen: Der Stickstoff aus *F* wird durch *c* ausgetrieben; *a* wird geschlossen und *D* mit *F* verbunden. Das Gas, das sich in der salpetrigsauren Lösung in *D* während der Absorption des Stickoxydes und des Messens des Stickstoffs gebildet hat, wird ausgeschüttelt, nach *F* und dann in die *Hempel*sche Pipette, wie früher, übergetrieben. Nach Absorption des Stickoxydes sollte das Gasvolumen jetzt nicht mehr betragen als dasjenige, welches man bei einem blinden Versuch gewöhnlich erhält, nämlich ungefähr 0·1 cm^3.

Nachdem nun nach Beendigung der Reaktion das Gas vollständig aus *D* nach *F* übergetrieben worden ist, läßt man die Salpetrigesäurelösung aus *D* durch den geöffneten Hahn *d* durch ein Ausflußrohr abfließen. *B* wird dann ausgespült und mit Filtrierpapier oder mit Alkohol und Äther getrocknet. Der Apparat ist nun für eine neue Bestimmung vorbereitet.

---

[1]) *Kahlbaums* „Oktylalkohol (sekundär) I". Der Oktylalkohol verhindert Schäumen besser als der früher empfohlene Amylalkohol. Außerdem hat er keinen störenden Dampfdruck.

Sobald man eine neue Nitritlösung benutzt, muß eine blinde Bestimmung vorgenommen werden, und zwar so, daß man unter den üblichen Bedingungen arbeitet, aber anstatt der Aminosubstanzlösung 10 *cm*³ destillierten Wassers verwendet. Die Menge Gas, welche man bei einem blinden Versuch während 5 Minuten erhält, beträgt gewöhnlich 0·3—0·4 *cm*³. Bei längerer Versuchsdauer tritt eine geringfügige Erhöhung ein. Solche Nitritlösungen, die eine größere Korrektur erfordern, sollten nicht benutzt werden.

Die folgenden, mit einer $\frac{n}{10}$-Leucinlösung ausgeführten Bestimmungen zeigen den Gang der Reaktion an. Die für die Reagenzien notwendige Korrektur betrug 0·40 *cm*³. Für jede der folgenden Bestimmungen wurden 10 *cm*³ $\frac{n}{10}$-Leucinlösung, 14·01 *mg* Stickstoff enthaltend, gebraucht.

Reaktionszeit	Kubikzentimeter N	Temperatur	Druck Millimeter	Milligramm N erhalten	Kubikzentimeter N erhalten nach dem 2. Schütteln der Lösung	Total N in Milligramm erhalten
2 Minuten	24·38	23⁰	762	13·71	0·45	13·97
3 „	24·65	22⁰	762	13·93	0·20	14·03
4 „	24·80	22⁰	762	14·01	—	14·01
10 „	25·07	24⁰	762	14·03	—	14·03

Die Triebwelle machte bei diesem Versuche 300 Umdrehungen pro Minute. Bei einer Geschwindigkeit von 400 oder 500 Drehungen kann die Reaktion in drei oder bei höherer Zimmertemperatur bereits in zwei Minuten beendet sein.

Der Verlauf der Reaktion bei Ammoniakbestimmungen ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Zu diesem Versuche wurde eine $\frac{n}{5}$-Ammoniumsulfatlösung verwendet, die in 10 *cm*³ 28·02 *mg* Stickstoff enthielt.

Reaktionszeit	Kubikzentimeter N	Temperatur	Druck	Gewicht des N in Milligramm	Prozent des totalen Ammoniakstickstoffes
3 Minuten	12·1	24⁰	752	6·68	21·6
5 „	18·4	24⁰	752	10·16	36·3
10 „	31·5	24⁰	752	17·38	62·1

Wie schon bemerkt, reagiert Ammoniak langsam im Vergleich zu den Aminosäuren. Für eine genaue Bestimmung des NH_2-Stickstoffs in Verdauungsflüssigkeiten usw. ist es ratsam, zuerst das Ammoniak zu entfernen. Man kann aber auch gute Vergleichsresultate bei Gegenwart der für gewöhnlich vorhandenen, verhältnismäßig kleinen Mengen Ammoniak erhalten, falls die gleichen Reaktionsbedingungen in betreff der Zeit, der

Temperatur und der Konzentration der Lösungen genau innegehalten werden, so daß die Menge des zersetzten Ammoniaks bei jeder Bestimmung die gleiche ist. Das Ammoniak kann bequem entfernt und bestimmt werden durch Destillation mittelst Kalziumhydroxyds unter vermindertem Druck, wie Bd. V dieses Handbuches, S. 1015 beschrieben wurde. Nach der Destillation wird der Überschuß des Kalziumhydroxyds mit Essigsäure gelöst. Zur weiteren Bestimmung ist es wichtig, daß der gesamte Äthylalkohol abdestilliert ist. Dies ist meistens der Fall, wenn die Flüssigkeit im Destillierkolben zu schäumen beginnt.

Versuche mit Lysinpikrat: Lysin reagiert, wie früher festgestellt wurde, langsamer als die anderen Aminosäuren, weil es neben der α-Aminogruppe auch noch eine ω-Aminogruppe enthält. Die Bestimmungen mit Lysinpikrat, bei denen beim 15- und 30 Minutenversuch die Lösung nur während der letzten 6 Minuten geschüttelt wurde, ergaben folgende Resultate:

Gewicht des Lysinpikrats	Reaktionszeit	Kubikzentimeter N	Temperatur	Druck	NH_2% N gefunden	NH_2% N berechnet
0·200	5 Minuten	25·4	24°	764	7·13	7·47
0·200	15 „	26·7	24°	764	7·49	7·47
0·200	30 „	26·7	24°	764	7·49	7·47

Die zu analysierenden Lösungen sollen frei von Äthylalkohol und von Azeton sein. Denn diese Substanzen liefern beim Mischen mit salpetriger Säure Gase, die nur schwierig von der Permanganatlösung absorbiert werden. Ferner ist auch zu berücksichtigen, daß, wenn bei den Bestimmungen Amylalkohol gebraucht wird, die Permanganatlösung oft erneuert werden muß.[1]) Man kann übrigens die Anwendung von Amylalkohol vermeiden, selbst falls Lösungen vorliegen, welche Neigung zum Schäumen zeigen; man muß dann nämlich nur das Schütteln für einige Sekunden unterbrechen, um den Schaum sich absetzen zu lassen, der sich besonders während der ersten 2 Minuten, wenn die Gasentwicklung am stärksten ist, bildet. Dann kann man unbehindert bis zu Ende der 5. Minute schütteln.

Zu bemerken ist noch, daß Amylalkohol, dessen Zusatz in der ursprünglichen Beschreibung zur Verhinderung des Schäumens viskoser Lösungen empfohlen wurde, für den genannten Zweck durch Kaprylalkohol (Oktylalkohol, sekundär, I, nach *Kahlbaum*) ersetzt werden muß. Der Grund hierfür ist folgender: Amylalkohol, der bei 131° siedet, hat den Nachteil, eine sehr

[1]) Vgl. hierzu S. 283.

bemerkenswerte Dampftension zu besitzen. Permanganatlösung vermag nun augenscheinlich nur geringe Mengen Amylalkoholdampf zu absorbieren. Es ist daher nötig, besonders an heißen Tagen und wenn verhältnismäßig viel Amylalkohol gebraucht wird, die Permanganatlösung nach jeder Analyse zu erneuern, falls man nicht abgelesene Gasvolumen mit Hilfe eines empirisch festgestellten Korrektionsfaktors reduzieren will.

Die im folgenden angeführten Bestimmungen mögen das eben Gesagte erläutern. Sie wurden mit einer $\frac{n}{10}$-Leuzinlösung ausgeführt. In jedem Falle wurde 1 *cm*³ Amylalkohol gebraucht. Die Temperatur betrug 27°, der Druck 756 *mm*. Die Analysen wurden schnell nacheinander ausgeführt. Es kam dabei immer dieselbe Permanganatlösung zur Verwendung.

Nr.	Kubikzentimeter n/10-Leuzinlösung	Kubikzentimeter Gas beobachtet	Kubikzentimeter Gas berechnet für N	Beobachtetes Gas / Berechnetes Gas
1	10	26·1	25·7	1·015
2	10	27·8	25·7	1·082
3	10	27·6	25·7	1·079
4	10	27·6	25·7	1·079
5	5	13·8	13·05	1·079

Aus theoretischen Gründen muß ein Alkohol von höherem Molekulargewicht für den fraglichen Zweck angebrachter sein, da nämlich mit Erhöhung des Molekulargewichts des Alkohols eine Verminderung der Flüchtigkeit einhergeht, während sich aber andrerseits dabei die Fähigkeit, die Oberflächenspannung von wässerigen Lösungen zu vermindern, erhöht. Der *Kahlbaum*sche sekundäre Oktylalkohol (Kaprylalkohol) ist für den gedachten Zweck, wie die Versuche ergeben haben, in jeder Weise zu empfehlen. (Er zeichnet sich auch durch seinen verhältnismäßig niedrigen Preis aus.) Der erwähnte Oktylalkohol ist derartig fähig, das Schäumen zu verhindern, daß bereits wenige Tropfen genügen, um eine 2- oder 3⁰/₀ige Eieralbuminlösung ohne Schwierigkeit analysieren zu lassen, selbst wenn die Reaktionslösung schnell mit einem Motor geschüttelt wird. Daß bei Anwendung des Oktylalkohols die Genauigkeit der Resultate in keiner Weise beeinflußt wird, geht aus den in folgender Tabelle wiedergegebenen Analysenresultaten hervor. Es wurden diese Analysen wieder in der gleichen Weise, wie die oben mittelst Amylalkohols angeführten Bestimmungen, vorgenommen. Als Analysenlösung diente wiederum eine $\frac{n}{10}$-Leuzinlösung. Die Temperatur betrug 29° und der Druck 756 *mm*. Die erste der folgenden Bestimmungen war ein Kontrollversuch ohne Oktylalkohol.

Nr.	Kubikzentimeter n/10-Leuzinlösung	Kubikzentimeter Gas beobachtet	Kubikzentimeter Gas berechnet für N
1	10·00 ± 0·04	25·95	25·95 ± 0·10
2	10·00 ± 0·04	25·90	25·95 ± 0·10
3	10·00 ± 0·04	25·95	25·95 ± 0·10
4	10·00 ± 0 04	26·00	25·95 ± 0·10
5	10·00 ± 0·04	25·85	25·95 ± 0·10

Zur Bequemlichkeit für die Berechnung der Resultate sei folgende Tabelle beigegeben. Die Zahlen sind erhalten worden, indem die von *Gattermann* in „Praxis des organischen Chemikers“ (IX. Auflage) angegebenen Werte für feuchten Stickstoff durch 2 dividiert wurden. Diese Zahlen stellen die Gewichte des Aminostickstoffs in Milligramme dar, welche 1 *cm*³ Stickstoffgas entsprechen, wie man ihn bei der Einwirkung mit salpetriger Säure und beim Messen über Wasser bei den angegebenen Temperaturen und dem betreffenden Barometerstand erhält.

Tabelle zur Berechnung der Aminostickstoff-Bestimmungen.

T.	b. 728	730	732	734	736	738	740	742	744	746	748	750 *mm*
11°	0·5680	0·5695	0·5710	0·5725	0·5745	0·5760	0·5775	0·5790	0·5805	0·5820	0·5840	0·5855
12°	0·5655	0·5670	0·5685	0·5700	0·5720	0·5735	0·5750	0·5765	0·5780	0·5795	0·5815	0·5830
13°	0·5630	0·5645	0·5660	0·5675	0·5695	0·5710	0·5725	0·5740	0·5755	0·5770	0·5785	0·5805
14°	0·5605	0·5620	0·5635	0·5650	0·5665	0·5680	0·5700	0·5715	0·5730	0·5745	0·5760	0·5775
15°	0·5580	0·5595	0·5610	0·5625	0·5640	0·5655	0·5670	0·5685	0·5705	0·5720	0·5735	0·5750
16°	0·5555	0·5570	0·5585	0·5600	0·5615	0·5630	0·5645	0·5660	0·5675	0·5690	0·5710	0·5725
17°	0·5525	0·5540	0·5555	0·5575	0·5590	0·5605	0·5620	0·5635	0·5650	0·5665	0·5680	0·5695
18°	0·5500	0·5515	0·5530	0·5545	0·5560	0·5580	0·5595	0·5610	0·5625	0·5640	0·5655	0·5670
19°	0·5475	0·5490	0·5505	0·5520	0·5535	0·5550	0·5565	0·5580	0·5595	0·5610	0·5630	0·5645
20°	0·5445	0·5460	0·5475	0·5495	0·5510	0·5525	0·5540	0·5555	0·5570	0·5585	0·5600	0·5615
21°	0·5420	0·5435	0·5450	0·5465	0·5480	0·5495	0·5510	0·5525	0·5540	0·5555	0·5575	0·5590
22°	0·5395	0·5410	0·5425	0·5440	0·5455	0·5470	0·5485	0·5500	0·5515	0·5530	0·5545	0·5560
23°	0·5365	0·5380	0·5395	0·5410	0·5425	0·5440	0·5455	0·5470	0·5485	0·5500	0·5515	0·5530
24°	0·5335	0·5350	0·5365	0·5380	0·5400	0·5415	0·5430	0·5445	0·5460	0·5475	0·5490	0·5505
25°	0·5310	0·5325	0·5340	0·5355	0·5370	0·5385	0·5400	0·5415	0·5430	0·5445	0·5460	0·5475
26°	0·5280	0·5295	0·5310	0·5325	0·5340	0·5355	0·5370	0·5385	0·5400	0·5415	0·5430	0·5445
27°	0·5250	0·5255	0·5280	0·5295	0·5310	0·5325	0·5340	0·5355	0·5370	0·5385	0·5400	0·5415
28°	0·5220	0·5235	0·5250	0·5265	0·5280	0·5295	0·5310	0·5325	0·5340	0·5355	0·5370	0·5385
29°	0·6195	0·5210	0·5220	0·5235	0·5250	0·5265	0·5280	0·5295	0·5310	0·5325	0·5340	0·5355
30°	0·6160	0·5175	0·5190	0·5205	0·5220	0·5235	0·5250	0·5265	0·5280	0·5295	0·5310	0·5325

T.	b. 752	754	756	758	760	762	764	766	768	770	772 mm
11°	0·5870	0·5885	0·5900	0·5915	0·5935	0·5950	0·5965	0·5980	0·5995	0·6010	0·6030
12°	0·5845	0·5860	0·5875	0·5890	0·5905	0·5925	0·5940	0·5955	0·5970	0·5985	0·6000
13°	0·5820	0·5835	0·5850	0·5865	0·5880	0·5895	0·5910	0·5930	0·5945	0·5960	0·5975
14°	0·5790	0·5805	0·5825	0·5840	0·5855	0·5870	0·5885	0·5900	0·5915	0·5935	0·5950
15°	0·5765	0·5780	0·5795	0·5810	0·5830	0·5845	0·5860	0·5875	0·5890	0·5905	0·5920
16°	0·5740	0·5755	0·5770	0·5785	0·5800	0·5815	0·5830	0·5850	0·5865	0·5880	0·5895
17°	0·5710	0·5730	0·5745	0·5760	0·5775	0·5790	0·5805	0·5820	0·5835	0·5850	0·5865
18°	0·5685	0·5700	0·5715	0·5730	0·5745	0·5765	0·5780	0·5795	0·5810	0·5825	0·5840
19°	0·5660	0·5675	0·5690	0·5705	0·5720	0·5735	0·5750	0·5765	0·5780	0·5795	0·5810
20°	0·5630	0·5645	0·5660	0·5675	0·5690	0·5705	0·5725	0·5740	0·5755	0·5770	0·5785
21°	0·5605	0·5620	0·5635	0·5650	0·5665	0·5680	0·5695	0·5710	0·5725	0·5740	0·5755
22°	0·5575	0·5590	0·5605	0·5620	0·5635	0·5650	0·5665	0·5680	0·5695	0·5715	0·5730
23°	0·5545	0·5560	0·5575	0·5595	0·5610	0·5625	0·5640	0·5655	0·5670	0·5685	0·5700
24°	0·5520	0·5535	0·5550	0·5565	0·5580	0·5595	0·5610	0·5625	0·5640	0·5655	0·5670
25°	0·5490	0·5505	0·5520	0·5535	0·5550	0·5565	0·5580	0·5595	0·5610	0·5625	0·5640
26°	0·5460	0·5475	0·5490	0·5505	0·5520	0·5535	0·5550	0·5565	0·5580	0·5595	0·5610
27°	0·5430	0·5445	0·5460	0·5475	0·5490	0·5505	0·5520	0·5535	0·5550	0·5565	0·5580
28°	0·5400	0·5415	0·5430	0·5445	0·5460	0·5475	0·5490	0·5505	0·5520	0·5535	0·5550
29°	0·5370	0·5385	0·5400	0·5415	0·5430	0·5445	0·5460	0·5475	0·5490	0·5505	0·5520
30°	0·5340	0·5355	0·5370	0·5385	0·5400	0·5415	0·5430	0·5445	0·5460	0·5475	0·5490

Beispiel einer Harnanalyse.

Von **Louis Baumann**, Jowa City.

Zu den folgenden Untersuchungen wählt man am besten einen männlichen Patienten. Von einem solchen kann man erstens den Urin unschwer quantitativ sammeln und zweitens ist er meistens leichter Fütterungsversuchen zugänglich, als ein weiblicher Patient.

Den Urin läßt man, falls es sich um einen bettlägerigen Patienten handelt, in eine Harnflasche entleeren und führt ihn dann quantitativ mittelst einer gemessenen Menge destillierten Wassers in eine verschließbare Flasche über, die, falls Kalium oder Natrium bestimmt werden soll, aus Jenaer oder aus rheinischem Geräteglas bestehen soll. Die Flasche wird mit 10 cm^3 Toluol versetzt und schließlich mit einem gut schließenden Korkstopfen versehen. Soll der Urin einige Zeit aufgehoben werden, so muß man ihn auf Eis aufbewahren.

Das Volumen des Harns wird mit Hilfe eines Meßzylinders von 2000 cm^3 Inhalt gemessen. Das zugesetzte Wasser und Toluol sind dabei natürlich abzuziehen.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes geschieht nach den im V. Bd. der biochemischen Arbeitsmethoden (vgl. 1. Teil, S. 283) gemachten Angaben.

Bei der Untersuchung des Harnes müssen sogleich die Stickstoffwerte bestimmt werden. Hierzu benutzt man frischen, nicht erhitzten Urin. Für die Bestimmung der übrigen Elemente ist es belanglos, wenn der Harn auch nicht mehr frisch zur Untersuchung kommt.

Der Harn setzt bekanntlich beim Stehen oft ein dickes Uratsediment ab. Um die für die Analyse erforderliche klare Lösung zu erhalten, verfahre man wie folgt: Die Flasche, die den sauren Urin enthält, wird tüchtig durchgeschüttelt; dann gießt man daraus schnell etwa 500 cm^3 Urin in einen trockenen Rundkolben, dessen Hals zu einem Rohr von ca. 70 cm Länge und 12—13 mm Durchmesser ausgezogen worden ist und der mit einem Kühlerglasmantel versehen ist, so daß der Kolbenhals mit laufendem Wasser gekühlt werden kann. Unter Kühlung wird nun der Urin in dem Kolben zum Sieden erhitzt; es findet dabei kein Wasserverlust statt. Sobald klare Lösung eintritt, läßt man schnell auf 15° C abkühlen und gießt dann in

einen trockenen Erlenmeyerkolben um. Die zu den Untersuchungen erforderlichen Mengen werden daraus mittelst einer Pipette entnommen.

Stickstoff. Man verwendet $10\,cm^3$. Als Indikator nimmt man alizarinsulfosaures Natrium. In betreff der weiteren näheren Angaben sei auf Bd. I, S. 341 dieses Handbuches verwiesen.

Ammoniak wird am besten nach den Angaben von *Folin* (vgl. Bd. V, S. 285) bestimmt. Man gebraucht zu dieser Bestimmung $20\,cm^3$. Die Gesamtazidität wird ebenfalls nach *Folin* (Bd. V, S. 283) festgestellt, und zwar mit $25\,cm^3$ Urin.

Der Gesamtschwefel wird am besten nach *Benedict*, und zwar in $10\,cm^3$ Urin bestimmt. (Nähere Angaben hierzu vgl. Bd. V, S. 289.)

Die folgenden Analysenwerte, die nacheinander ausgeführte Doppelanalysen ergaben, mögen die Zuverlässigkeit dieser Methode beweisen:

4. Juli	0·1000 $BaSO_4$
	0·1000 $BaSO_4$
5. „	0·0924 $BaSO_4$
	0·0930 $BaSO_4$
6. „	0·0944 $BaSO_4$
	0·0946 $BaSO_4$
7. „	0·0921 $BaSO_4$
	0·0923 $BaSO_4$
8. „	0·1031 $BaSO_4$
	0·1030 $BaSO_4$

Die Bestimmung des Chlors wird nach der von *Clarke* modifizierten *Dehn*schen Methode vorgenommen. (Vgl. *Hawk*s praktische physiologische Chemie, 3. Ausgabe, S. 338.) Man verfährt wie folgt:

$10\,cm^3$ Urin werden in einen Nickeltiegel von ungefähr $250\,cm^3$ Inhalt pipettiert. Nun fügt man vorsichtig unter sorgfältiger Bedeckung des Tiegels mit dem Deckel etwa 1·5 *g* Natriumsuperoxyd (halogenfrei) hinzu und verdampft dann auf einer elektrischen Heizplatte zur Trockne. Darauf befeuchtet man mit ca. $2\,cm^3$ destillierten Wassers, setzt 3—5 *g* Natriumsuperoxyd hinzu und erhitzt zum Schmelzen. Hiernach läßt man abkühlen, löst dann in $100\,cm^3$ Wasser, und zwar, wenn es erforderlich ist, unter Erhitzen, gießt die Flüssigkeit in einen Erlenmeyerkolben von $300\,cm^3$ Inhalt, erhitzt zum Sieden, säuert vorsichtig mit verdünnter Salpetersäure (1 Teil HNO_3 : 1 Teil H_2O) an, filtriert, wenn nötig, und versetzt dann zur Fällung mit 5%iger Silbernitratlösung. Man erwärmt, bis der Niederschlag sich abgesetzt hat, filtriert danach durch einen gewogenen Goochtiegel, wäscht bis zur Beseitigung des Silbernitrats aus, trocknet bei 120° C und wiegt schließlich.

Totalphosphor. Die *Neumann*sche Methode (vgl. Zeitschr. f. prakt. Chem., 1902/03, S. 115 und 1904/05, S. 32, 45) wird hierzu, wie folgt, angewandt:

50 *cm*³ Urin werden mit 5 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure gemischt und dann mit konzentrierter Salpetersäure tropfenweise mit Hilfe eines Tropftrichters versetzt. Nun erhitzt man sorgfältig, bis die Flüssigkeit völlig klar ist. Darauf füllt man in einen Meßkolben von 250 *cm*³ um und verdünnt mit Wasser bis zur Marke. Die Lösung dient für die Phosphor-, Kalium- und Natriumbestimmungen.

Der Phosphor wird am besten nach *Neumanns* volumetrischer Methode in folgender Weise bestimmt. In einen Jenenser-Erlenmeyerkolben von 400 *cm*³-Inhalt werden 50 *cm*³ der Aschelösung gebracht. Zu dieser Lösung fügt man 100 *cm*³ Wasser, 50 *cm*³ einer 50%igen Ammoniumnitratlösung, 3 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure und 1 *cm*³ konzentrierter Salpetersäure. Diese Mischung wird bis zum Aufsteigen von Blasen erhitzt und dann zur Fällung mit 40 *cm*³ einer 10%igen Ammoniummolybdatlösung versetzt. Der Kolben wird hierauf 1 Minute, bis die Fällung vollständig ist, geschüttelt und dann 10 Minuten ruhig stehen gelassen. Danach wird durch einen Goochtiegel dekantiert und mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat blaues Lackmuspapier nicht mehr rötet. Nach vier Auswaschungen ist der Niederschlag gewöhnlich frei von Säure. Er wird dann vom Tiegel mittelst einer aus einer Bürette zulaufenden $\frac{1}{2}$-n-Natriumhydratlösung losgelöst, indem man dabei die Lösung in dem ursprünglichen Erlenmeyerkolben auffängt. Das am Goochtiegel und am Asbestfilter anhaftende Alkali muß ebenfalls sorgfältig in den Erlenmeyerkolben gespült werden. Man setzt einen Überschuß von 5—10 *cm*³ von $\frac{n}{2}$ Alkali hinzu und erhitzt zum Sieden bis kein Ammoniakgas mehr entweicht (Prüfung mit Hilfe eines angefeuchteten roten Lackmuspapierstreifens). In betreff der weiteren Details der Ausführung dieser Bestimmung sei auf Bd. I, S. 421 dieses Handbuches verwiesen.

Die folgenden Zahlen von fünf nacheinander vorgenommenen Doppelanalysen illustrieren die Zuverlässigkeit dieser Methode.

12. Juli	0·0398 P_2O_5
	0·0400 P_2O_5
13. „	0·0406 P_2O_5
	0·0407 P_2O_5
14. „	0·0408 P_2O_5
	0·0408 P_2O_5
15. „	0·0414 P_2O_5
	0·0420 P_2O_5
16. „	0·0398 P_2O_5
	0·0395 P_2O_5

Natrium und Kalium. 50 *cm*³ der *Neumann*schen Aschenlösung, wie man sie zur Bestimmung des Phosphors benutzt, werden in einer Platinschale verdampft, und zwar wird dabei die Schwefelsäure vollständig

durch gelindes Erhitzen vertrieben. Den Rückstand löst man in wenig destilliertem Wasser und führt diese Lösung in einen Jenenser-Erlenmeyerkolben über. Nun setzt man noch 100 *cm*³ Wasser und 5 *cm*³ konzentrierte Salzsäure hinzu, erhitzt die Lösung zum Sieden und fällt die SO_4-Ionen durch tropfenweisen Zusatz von 10 *cm*³ einer 10%igen Baryumchloridlösung mit Hilfe des *Folin*schen automatischen Tropfapparates.[1]) Nach Erkalten wird vom Baryumsulfat durch ein aschefreies Filter in eine Platinschale von ungefähr 250 *cm*³ filtriert und gut ausgewaschen. Das Filtrat und die Waschwässer werden auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, um die Hauptmasse der Salzsäure zu entfernen. Der Rückstand wird dann mittelst 100 *cm*³ Wasser in einen Jenenser-Erlenmeyerkolben übergeführt, zum Sieden erhitzt und durch tropfenweisen Zusatz (mit Hilfe der *Folin*schen Tropfmethode) von 20 *cm*³ einer halbgesättigten Lösung von chemisch reinem Baryumhydroxyd (das durch doppelte Umkristallisation gereinigt wurde) gefällt. Nach dem Erkalten wird vom Niederschlag in eine Platinschale filtriert. Nach vollständigem Auswaschen werden Filtrat und Waschwasser mit einer ammoniakalischen Ammoniumkarbonatlösung behandelt, bis keine Fällung mehr hervorgerufen wird. (Die Ammoniumkarbonatlösung stellt man sich so dar, daß man gewaschene trockene Kohlensäure in eine 15%ige Ammoniaklösung einleitet.) Nach zweistündigem Stehenlassen wird vom Niederschlag wieder in eine Platinschale filtriert, sorgfältig ausgewaschen und die Lösung vorsichtig auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, indem man dabei eine zu rasche Zersetzung des Ammoniumkarbonats vermeidet. Der Rückstand wird wieder 2 Stunden lang mit ungefähr 10 *cm*³ der ammoniakalischen Ammoniumkarbonatlösung behandelt, dann wird filtriert, ausgewaschen und schließlich Filtrat mit Waschwasser zur Trockne verdunstet. Der Rückstand wird endlich in Lösung in einen gewogenen Platintiegel übergeführt; dann verdampft man auf dem Wasserbade zur Trockne und verflüchtigt die Ammoniumsalze durch gradweise Steigerung des Erhitzens, bis schließlich konstantes Gewicht erreicht ist.

Das Gewicht der Chloride des Kaliums und des Natriums wird durch Subtraktion des Gewichtes des leeren Tiegels von dem des Tiegels + Chloride erhalten. Die Chloride werden nun in wenig Wasser gelöst und in eine kleine Abdampfschale von 150 *cm*³ Inhalt filtriert. Das aschefreie Filter und der Rückstand werden völlig ausgewaschen, getrocknet und in den Platintiegel zurückgebracht. Hierauf wird verbrannt und das Gewicht der Asche von der Summe der Chloride des Kaliums und des Natriums abgezogen.

Das Kalium wird im Filtrate als Kaliumplatinchlorid, wie folgt, bestimmt: Das Filtrat wird auf ungefähr 5 *cm*³ verdampft, dann werden 5 *cm*³ einer 10%igen Platinchloridlösung und 50 *cm*³ 90%igen Alkohols zugefügt. Nach 24 Stunden wird durch einen gewogenen Goochtiegel filtriert, mit 95%igem Alkohol gewaschen, bei 100° getrocknet und dann gewogen. Der

[1]) Vgl. *O. Folin*, Journ. Biol. chem. Vol. 1. p. 131 (1906).

erhaltene Kaliumwert wird auf Kaliumchlorid umgerechnet und diese Zahl von dem Gewicht des Natrium- und Kaliumchlorids abgezogen. Es verbleibt das Gewicht des Natriumchlorids.

Auf diese Weise wurden mit Hilfe einer Standardlösung, welche Kalium und Natrium, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kalzium und Magnesium ungefähr in den Verhältnissen enthält, die für gewöhnlich in den zu analysierenden Aschenlösungen auftreten, befriedigende Resultate erhalten.

Lösung I enthielt	0·1011 *g* Na Cl	und	0·0692 *g* KCl
Gefunden:	0·1016 „ Na Cl	„	0·0694 „ KCl
	0·1003 „ Na Cl	„	0·0691 „ KCl
	0·1016 „ Na Cl	„	0·0694 „ KCl
Lösung II enthielt	0·0809 „ Na Cl	„	0·0553 „ KCl
Gefunden:	0·0806 „ Na Cl	„	0·0552 „ KCl
	0·0814 „ Na Cl	„	0·0553 „ KCl

Kalzium und Magnesium. 50 cm^3 Harn werden direkt nach der von *Mc Crudden* im V. Bd. dieser Arbeitsmethoden, S. 293 beschriebenen Methode auf Kalzium und Magnesium untersucht.

Auf Grund der erhaltenen Analysenresultate können wir uns dem Urteile *Mc Cruddens* über die Zuverlässigkeit der Methode durchaus anschließen. Sieben nacheinander doppelt ausgeführte Analysen ergaben die folgenden, gut übereinstimmenden Werte:

4. Juli	0·0107 Mg O	und	0·0117 Ca O
	0·0107 Mg O	„	0·0117 Ca O
5. „	0·0074 Mg O	„	0·0120 Ca O
	0·0073 Mg O	„	0·0120 Ca O
6. „	0·0069 Mg O	„	0·0120 Ca O
	0·0072 Mg O	„	0·0129 Ca O
7. „	0·0069 Mg O	„	0·0123 Ca O
	0·0072 Mg O	„	0·0125 Ca O
8. „	0·0087 Mg O	„	0·0142 Ca O
	0·0088 Mg O	„	0·0146 Ca O
9. „	0·0080 Mg O	„	0·0146 Ca O
	0·0080 Mg O	„	0·0146 Ca O
10. „	0·0078 Mg O	„	0·0141 Ca O
	0·0078 Mg O	„	0·0141 Ca O

Chemische und biologische Untersuchung des Wassers und Abwassers.

Von **O. Emmerling**, Berlin.

Alles Leben ist an das Vorhandensein von Wasser geknüpft; mit seiner Hilfe vollzieht sich der Stoffwechsel, der Transport der Bausteine des Organismus von einer Zelle zu der anderen, die Beseitigung unbrauchbar gewordener oder schädlicher Substanzen aus dem Gefüge des Körpers. Die Zuführung genügender Wassermengen bildet daher einen Hauptteil der Ernährung. Die gute Beschaffenheit des Wassers ist eine Hauptforderung der Hygiene und öffentlichen Gesundheitspflege. Wo Wasser nicht in genügender Quantität und Qualität direkt zur Verfügung stand, ist deshalb weder Mühe noch Kosten gescheut worden, das unentbehrliche Element zu beschaffen, denn nicht immer und überall entspricht dasselbe, wie es uns die Natur im reichsten Maße bietet, den Anforderungen, welche man an einen so wichtigen Nahrungs- und Gebrauchsstoff zu stellen hat. In den Formen, in denen es als Regen-, Quell-, Brunnen-, Fluß-, Seewasser auftritt, repräsentiert es nie einen reinen Körper im chemischen Sinne, sondern stellt eine mehr oder weniger mit anorganischen und organischen Stoffen der verschiedensten Art gesättigte wässerige Lösung vor, deren Bestandteile von der Art und Länge des Weges abhängen, den es in stetem Laufe begriffen zurücklegen mußte. Es hatte dabei Gelegenheit, Bestandteile der Luft und des Bodens aufzunehmen, zu verändern, gelöste wieder auszuscheiden. Da streng genommen keine Substanz absolut unlöslich ist, so kann die Anzahl der gelösten Stoffe außerordentlich groß sein, wenn ihre Quantität auch oft bis auf kaum nachweisbare Spuren herabsinkt.

Bei der Beurteilung der natürlich vorkommenden Wässer können beide Faktoren, Qualität und Quantität der Bestandteile, eine ausschlaggebende Rolle spielen; oft nur der eine, oft beide zugleich, je nach dem Zweck, welchem das Wasser dienen soll. In seltenen Fällen wird man Wert auf die Kenntnis aller Stoffe legen, wie beispielsweise bei Mineralwässern, deren Bedeutung oft gerade in der Menge der in sehr geringer Quantität vorhandenen Bestandteile liegt oder gefunden wird; es genügt vielmehr

diejenigen Körper in Betracht zu ziehen, deren Menge, deren Anwesenheit oder Fehlen für bestimmte Verwendungsarten gerade maßgebend sind. Die Untersuchung von Wasser hat sich also allermeist auf solche Stoffe zu erstrecken und erfährt von selbst hierdurch die nötige Beschränkung. Bei allen Untersuchungen ist zunächst die Frage aufzustellen, wozu das Wasser verwendet werden soll. Denn es ist klar, daß an ein Trinkwasser andere Anforderungen gestellt werden müssen als an ein für technische Zwecke dienendes, und daß vielfach für letztere Wässer recht wohl zu verwenden sind, denen die Qualitäten eines einwandfreien Trinkwassers abgehen.

Eine besondere Kategorie der Wässer bilden die Abwässer, d. h. Wässer, welche die zahlreichen Abfallstoffe des Haushaltes, der Landwirtschaft und der Industrie aufgenommen und als lästig wegzuführen bestimmt sind. Wenn bei ihnen die Frage der Verwendbarkeit eine nur untergeordnete Rolle spielt, so tritt die Erwägung in den Vordergrund, wie sie durch ihre gelösten oder suspendierten Bestandteile direkt oder indirekt zu wirken imstande sind, sei es auf die Beschaffenheit von Flora und Fauna anderer Gewässer, in welche sie gelangen, sei es auf die Gesundheit von Mensch und Tier, wenn sie in irgend einer Weise wieder verwendet werden müssen. Hierbei treten wieder neue Fragen auf, besonders die, ob der aufnehmende Wasserlauf, Fluß, Teich, See vermöge seiner Beschaffenheit die eintretenden Verunreinigungen zu beseitigen vermag, in welcher Zeit dies möglich ist u. dergl. m.

Um sich ein Bild von der allgemeinen chemischen Qualität eines Wassers machen zu können, genügt bisweilen die Ermittelung resp. quantitative Bestimmung weniger Stoffe und bisweilen genügt die rein chemische Methode überhaupt. Da jedoch die Qualität der Wässer nicht allein von der Beschaffenheit und Menge der gelösten anorganischen und organischen Stoffe abhängt, sondern oft weit mehr von der Menge und Art der in fast allen natürlichen Wässern vorkommenden Lebewesen pflanzlicher und tierischer Natur, so hat sich besonders in der neueren Zeit der chemischen die biologische Untersuchung ebenbürtig zur Seite gestellt. Wenn die chemische Untersuchung für die Beurteilung in gewissen Fällen genügt, so kann die biologische ihrerseits oft an ihre Stelle treten und die chemische überflüssig machen. In den meisten Fällen werden sich beide Methoden ergänzen. Die biologische Untersuchung erstreckt sich einerseits auf den Nachweis eventuell die quantitative Ermittelung von Bakterien und bedient sich dazu der allgemeinen bakteriologischen Methoden, andererseits auf die Beobachtung der übrigen im Wasser vorhandenen niederen oder höheren Organismen und hat sich dann zu einer besonderen biologischen Methode im engeren Sinne mit besonderen Arbeitsweisen ausgebildet. Da bestimmte Arten solcher Organismen für gewisse Wässer oder für die Verunreinigungen von Wässern als charakteristisch erkannt worden sind, so vermag bisweilen der Biologe weit rascher, oft auch sicherer, ein Urteil über den Charakter derartiger Wässer abzugeben als der Chemiker. Mittelst der biologischen Methode

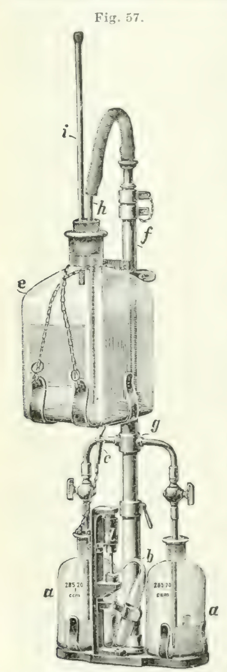
ist ganz besonders auch die plötzliche Verschmutzung eines öffentlichen Gewässers schnell zu konstatieren, andererseits verfolgt sie bequem die fortschreitenden Prozesse, wie sie bei der sogenannten Selbstreinigung der Gewässer auftreten, die allmähliche Zersetzung der organischen Substanzen bis zu ihrer endlichen Mineralisierung, da mit der fortschreitenden Reinigung auch das Bild der charakteristischen Organismen wechselt.

Für die Beurteilung der natürlichen Genuß- und Gebrauchswässer gesellt sich den chemisch-biologischen Untersuchungen noch die Ermittelung gewisser physikalischer Faktoren, wie Temperatur, Durchsichtigkeit, Farbe usw.

1. Die Probenahme für die chemische Untersuchung.

Um aus den Ergebnissen der Analyse richtige Schlüsse für die Beurteilung ziehen zu können, ist es erforderlich, die richtige Probe zu analysieren, welche der Durchschnittsbeschaffenheit des Wassers entspricht. Wenn irgend möglich sollte die Probeentnahme durch den Experten selbst geschehen.

Fig. 57.

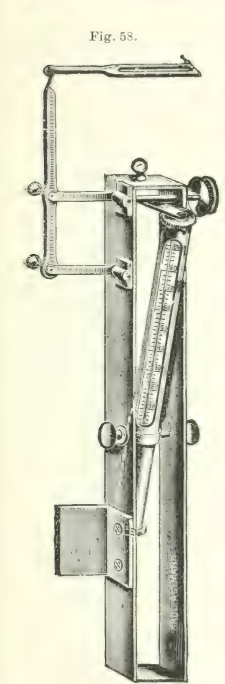


Zum Zweck der chemischen Analyse wird das Wasser in gut gereinigten Glasflaschen mit Glasstopfen gesammelt, welche mehreremal mit demselben Wasser auszuspülen sind; meistens werden zwei Liter genügen. Bei Quellen- und Oberflächenwässern taucht man die Flasche vorsichtig unter die Oberfläche des Wassers so, daß weder von der Oberfläche noch vom Grunde zufällige Verunreinigungen in das Gefäß gelangen, oder man füllt die Flasche mittelst kleiner Schöpfgläser o. dgl. Brunnen müssen längere Zeit ausgepumpt werden, bevor das ausfließende Wasser in die Gefäße aufgenommen wird, ebenso schaltet man die ersten Anteile des Wassers aus Leitungsröhren aus. Die Überlegung wird in jedem einzelnen Falle ergeben, wie die Probeentnahme am zweckmäßigsten zu geschehen hat. Um Wasser aus bestimmten Tiefen zu entnehmen, hat man eine Anzahl von Apparaten konstruiert, von denen die von *Heyroth*, *Spitta*, *Spitta* und *Imhoff* (Fig. 57), *Behre* und *Thimme* zu nennen sind. Bei stark strömenden Flüssen haben sich die Einrichtungen von *Ohlmüller* und *Heise* oder *Mayrhofer* bewährt. Zum Teil dienen diese Apparate gleichzeitig zur Probenahme für die bakteriologische Untersuchung.

Bestimmung der Temperatur.

Da die Temperatur des Wassers, soweit es sich um Oberflächenwasser handelt, von der Lufttemperatur abhängig ist, so muß letztere gleichzeitig gemessen werden. Man bedient sich in $^1/_5$ Grade eingeteilter Thermometer, deren Quecksilbersäule sich schnell einstellt, und mißt, wenn man nicht bequem direkt eintauchen kann, in einer größeren Probe, etwa einem Eimer oder Bottich, den man frisch mit Wasser gefüllt hat. Soll die Temperatur des Wassers in größeren Tiefen ermittelt werden, so wendet man Tiefseethermometer an, wie ein solches beispielsweise von *Negretti* konstruiert worden ist (Fig. 58). Das Thermometer befindet sich hier in einer Metallfassung, mit welcher es an einer Kette in die Tiefe gelassen wird. Ist die gewünschte Tiefe erreicht, wird durch ein herunterfallendes Gewicht eine Feder ausgelöst, und das Thermometer macht automatisch eine Umdrehung von 180°, wobei der Quecksilberstand fixiert bleibt.

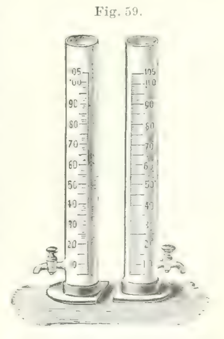
Fig. 58.



Bestimmung der Farbe.

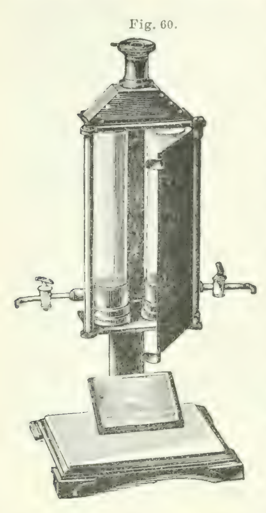
Die natürliche Farbe der Wässer in größerer Tiefe ist meist blau, grün oder gelb. Da die gelbliche Nuance die vorwiegende ist, so wird auf sie bei Bestimmungen meist Rücksicht genommen und die Intensität der Färbung mit einer solchen gemessen, wie sie durch Vergleichsstoffe in bestimmten Mengen hervorgerufen wird. Als Vergleichsfarbe dient meist eine Karamellösung von bestimmtem Gehalt, von der man soviel zu reinem Wasser gibt, bis die Färbung der des Untersuchungsobjektes entspricht. Die Karamellösung erhält man, indem man 1 *g* reinen Rohrzucker in 40—50 cm^3 Wasser löst, nach Hinzufügen von 1 cm^3 verdünnter Schwefelsäure (1:3) 10 Minuten kocht, 1 cm^3 Natronlauge (1:2) zusetzt, abermals 10 Minuten kocht und auf 1 Liter auffüllt. 1 cm^3 entspricht 1 *mg* Karamel. Für derartige colorimetrische Bestimmungen sind die sogenannten *Hehner*schen Zylinder (Fig. 59) äußerst zweckmäßig. Es sind Zylinder in cm^3 geteilt und unten glattgeschliffen oder mit Glasplatte verschlossen. Am unteren Ende befinden sich Glas-

Fig. 59.



hähne. Man füllt den einen Zylinder mit dem zu untersuchenden Wasser, den anderen mit destilliertem Wasser, welchem man soviel der Vergleichsflüssigkeit zugesetzt hat, daß nach dem Umschütteln der Farbenton annähernd der gleiche ist wie im ersten Zylinder, wenn man die Zylinder gegen eine weiße Unterlage hält. Durch Ablassen von Flüssigkeit aus dem einen oder anderen Glashahn wird man rasch gleiche Farbenintensität erreichen und durch einfache Rechnung die gegenseitigen Werte bestimmen können.

Fig. 60.



Beispiel: Im Vergleichszylinder wurden 90 cm^3 Wasser mit 2 cm^3 Karamellösung versetzt, auf 100 cm^3 aufgefüllt und gemischt. Die Farbe war dunkler als die des zu untersuchenden Wassers. Nach Ablassen von 20 cm^3 trat Farbengleichheit ein. Da in 100 cm^3 2 cm^3 Karamellösung, d. h. 2 mg Karamel enthalten sind, enthalten die übrigen 80 1·6 mg. Die Färbung des Wassers entsprach demnach pro 100 cm^3 1·6 mg Karamel.

Sehr bequem für die Farbenmessung sind auch die verschiedenen Kolorimeter; ebenso leistet das Farbenmaß von *Stammer* recht gute Dienste. Fig. 60 zeigt das Farbenmaß nach *C. H. Wolff*.

Bestimmung der Durchsichtigkeit.

Die Durchsichtigkeit eines Wassers ist um so größer, je weniger Schwebestoffe es enthält. Da beim Aufbewahren auch in anfangs klaren Wässern vielfach Ausscheidungen stattfinden, so hat die Bestimmung der Durchsichtigkeit möglichst an der Entnahmestelle zu geschehen. Man ist übereingekommen, die Durchsichtigkeit so zu ermitteln, daß man prüft, in welcher Höhe es noch möglich ist, darunter gehaltene Schrift zu lesen. Für diesen Zweck füllt man das Wasser in *Hehner*sche Zylinder und hält diese über die sogenannte *Snellen*sche Schriftprobe. Man läßt dann so lange Wasser abfließen, bis die Schrift deutlich sichtbar wird.

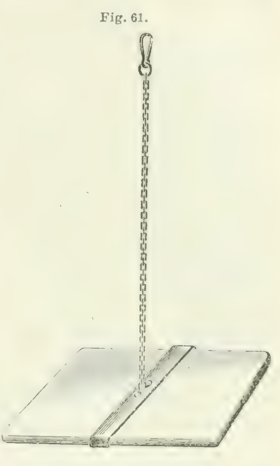
Der Jüngling, wenn Natur und Kunst ihn anzie-
hen, glaubt mit einem lebhaften Streben bald in
das innerste Heiligtum zu dringen. Der Mann
5 4 1 7 8 3 0 9

*Snellen*sche Schriftprobe.

Bei der Untersuchung von Teichen, Seen, Flüssen, besonders auch von Abwässern, genügt es meist, die Durchsichtigkeit mittelst der Senk-

scheibe zu messen. Dieselbe besteht aus einer weiß emaillierten oder gestrichenen Metallscheibe, welche an einer Metallfassung mittelst Kette oder Schnur in die Tiefe gelassen wird (Fig. 61). Man bestimmt, bis zu welcher Tiefe die Scheibe noch sichtbar bleibt. Sie besitzt zweckmäßig 20 *cm* Breite und 100 *cm* Länge.

Fig. 61.



Bestimmung des Geruchs.

Reine Wässer sind geruchlos; bei andern kann der Geruch modrig, moorig, faulig sein. Eigentümliche Gerüche sind bisweilen an das Vorkommen gewisser Organismen in größeren Mengen geknüpft. So riechen Wässer, in denen reichlich Fusarium vorkommt, nach Moschus; Fischgeruch wird durch gewisse Planktonorganismen bedingt. Da Schwefelwasserstoff andere Gerüche verdeckt, so setzt man zu nach ihm riechendem Wasser etwas Kupfersulfat, wodurch der Schwefelwasserstoffgeruch beseitigt wird. Am besten erkennt man Gerüche, wenn man das Wasser in einem Glaskolben, der mit Stopfen verschlossen ist, schwach erwärmt und dann den Stopfen entfernt.

Radioaktivität.

Der Gehalt an radioaktivem Gas oder die Emanation pflegt nur an Mineralwässern bestimmt zu werden. Bezüglich der Ausführung der Untersuchung sei auf die einschlägige Literatur verwiesen.[1])

Elektrisches Leitvermögen.

In gewissen Fällen kann die Ermittelung des elektrischen Leitvermögens von Wert sein, z. B. bei fortlaufenden Kontrollen, wo es sich darum handelt, zu ermitteln, ob plötzliche Änderungen durch Zuflüsse irgend welcher Art eintreten oder ob Zuflüsse bestimmte Grenzen nicht überschreiten. Für die Beurteilung eines Gebrauchswassers hat die Untersuchung keine Bedeutung erlangt. Als Methode kommt wohl ausschließlich die Brückenmethode von *Wheatstone* in Verbindung mit dem *Bell*schen Telephon in Betracht.[2]) Man hat auch selbst registrierende Apparate konstruiert.

Die Reaktion.

Die Reaktion natürlicher Gewässer wird bedingt durch gelöste mineralische Salze, Bikarbonate, Monokarbonate und durch freie Kohlensäure.

---

[1]) *Engler* und *Sieveking,* Zeitschr. f. anorg. Chem. Bd. 53. S. 1. 1907.

[2]) Das Nähere siehe *Pleissner*s Arb. aus dem Kais. Gesundheitsamt. 28 (1908). 444; *Spitta* und *Pleissner*, ebenda, 30 (1909). 463.

Abwässer können freie Säure enthalten, auch kann die ursprüngliche Reaktion durch biologische Vorgänge (Gärungen, Fäulnis) verändert werden, ja in kurzer Zeit in die entgegengesetzte umschlagen.

Freie Kohlensäure färbt blaues Lackmuspapier schwach rot, rote Rosolsäurelösung gelb. Bikarbonate und Monokarbonate reagieren wie freie Alkalien. Zur Ermittelung der Reaktion bedient man sich des empfindlichen Lackmuspapiers. Dieses sowohl wie empfindliche Lackmustinktur sind in guter Qualität im Handel zu haben. Die Bereitungsweise findet man unter „Reagentien". In einem Schälchen taucht man einen roten und blauen Streifen des Papieres in das Wasser und sieht, ob das Blaue gerötet resp. das Rote gebläut wird. Bei sauren Wässern (Abwässern) ermittelt man den „Säuregrad" durch Titrieren mit $^1/_{10}$ resp. $^1/_{100}$ Normal-Alkali; die „Alkalinität" alkalischer Wässer wird umgekehrt mit titrierter Säure bestimmt. Säuregrad und Alkalinität werden ausgedrückt in der Anzahl Kubikzentimeter Normal-Alkali resp. Normal-Säure, welche pro Liter Wasser erforderlich waren.

Ermittelung der gelösten Bestandteile.

Bestimmung der Kohlensäure.

Wenn man von Mineralwässern absieht, findet sich die Kohlensäure vorwiegend als Bikarbonat der Erdalkalien und als freie Kohlensäure. Wenn Wässer, wie z. B. Abwasser, Monokarbonate der Alkalien enthalten, so ist damit natürlich das Vorhandensein freier Kohlensäure ausgeschlossen.

Die qualitative Prüfung geschieht mittelst Kalkwassers, welches in kohlensäure- oder karbonathaltigen Wässern einen weißen Niederschlag erzeugt. Für die quantitative Bestimmung der freien Kohlensäure kommt als einfachste nur die *Trillich*sche Methode in Betracht. Bei allen solchen Bestimmungen gelöster Gase hat man natürlich die größte Vorsicht anzuwenden, daß bei der Probenahme oder beim Transport oder bei der Arbeit kein Verlust des Gases eintritt.

Bestimmung der freien Kohlensäure nach Trillich.[1])

100 *cm*³ Wasser werden mit 10 Tropfen Phenolphthalein versetzt und mit Natron, von welchem 1 *cm*³ 1 *mg* CO_2 entspricht, auf rot titriert. Der Versuch ist zu wiederholen, wobei man von vornherein so viel Natronlauge zugibt, als im ersten Versuch erforderlich waren; meistens wird man jetzt etwas mehr gebrauchen, da Spuren von Kohlensäure das erstemal verloren gegangen sind. Es bildet sich bei der Reaktion Bikarbonat:

$$Na_2\,CO_3 + CO_2 + H_2O = 2\,Na\,HCO_3.$$

[1]) Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln. Heft II. S. 160. 1899.

Der Kohlensäuregehalt wird auf 1 Liter berechnet.[1]) Man kann statt obiger Natronlauge die gewöhnliche $^1/_{10}$ normale verwenden, 1 *cm*³ derselben entspricht 2·2 *mg* CO_2.

Ermittelung der freien Kohlensäure und der Hydrokarbonate.[2])

200—300 *cm*³ Wasser werden ohne Gasverlust in eine Flasche von etwa 500 *cm*³ Inhalt gebracht mit 2 Tropfen Phenolphthalein versetzt und mit $\frac{n}{10}$ Sodalösung bis zur Rotfärbung titriert. Man erfährt so die Menge der freien CO_2 (siehe diese). Man fügt sodann einige Tropfen Methylorange zu und titriert mit $\frac{n}{10}$ Salzsäure bis zum Farbenumschlag. Hierdurch wird die Menge der ursprünglich vorhandenen und der bei der ersten Titrierung entstandenen Hydrokarbonate ermittelt. Es ist daher die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{10}$ Sodalösung von der Anzahl der Kubikzentimeter $\frac{n}{10}$ Salzsäure abzuziehen, der Rest auf Hydrokarbonat zu berechnen. Da zur Rotfärbung des Phenolphthaleins ein gewisser kleiner Überschuß von Soda erforderlich ist, so pflegt man eine Korrektur anzubringen, indem man von der gefundenen Menge Kohlensäure bis zu 25 *mg* 2 *mg*, bei mehr 1 *mg* CO_2 abzieht.

Beispiel: 200 *cm*³ Wasser brauchten bis zur Rötung 1·8 *cm*³ $^1/_{10}$ Soda, sodann 10·4 *cm*³ Salzsäure bis zur Entfärbung des Methylorange. Daraus berechnet sich:

$2·8 \times 2·2 = 6·16 - 2$ (Korrektur) $= 4·16$ *mg* CO_2 pro 200, also pro Liter 21·8 *mg* freie CO_2. Ferner $10·4 - 2·8 = 7·6 \times 2·2 = 16·7$ in 200, im Liter also 83·5 *mg* Kohlensäure als Hydrokarbonat.

Die Gesamtkohlensäure zu ermitteln, wird nur in seltenen Fällen in Frage kommen; bezüglich der dazu dienenden Methoden mag auf die Spezialliteratur verwiesen werden.[3])

Bestimmungen des gelösten Sauerstoffs.

Die Menge des im Wasser gelösten Sauerstoffes kann nach gasvolumetrischen und titrimetrischen Methoden ermittelt werden. So genaue Resultate auch die ersteren geben, so sind sie doch sehr umständlich und zeitraubend, lassen sich auch nur schwer am Orte der Entnahme, was von großer Wichtigkeit ist, ausführen. Wer sich mit derartigen Untersuchungen vertraut machen will, sei auf *Bunsens* gasometrische Methode und auf die Arbeiten von *Preusse* und *Tiemann* verwiesen.[4])

---

[1]) Die früher übliche Berechnung der Bestandteile auf 100.000 Teile ist jetzt fast allgemein aufgegeben.

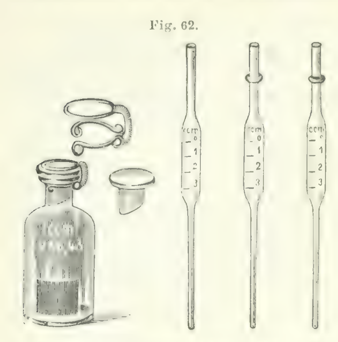
[2]) Nach *Seyler*, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **39**. S. 731. 1900.

[3]) *Fresenius*, Anleitung zur quant. chem. Analyse. Bd. **2**. 6. Aufl. S. 191. 1905.

[4]) *Preusse* und *Tiemann*, Über die quantitative Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffs. Ber. d. chem. Ges. Bd. **12**. S. 1768. 1879.

Von den titrimetrischen Methoden erscheint die von *L. W. Winkler*[1]) angegebene als die zweckmäßigste und genaueste. Sie beruht auf der Oxydation von Manganoxydul durch freien Sauerstoff, Lösen des Manganoxyds in Salzsäure und Ermittelung des dabei frei werdenden Chlors. Erfordernisse: 1. Glasflaschen von genau ermitteltem Inhalt mit schräg abgeschliffenem Glasstopfen, welcher mittelst Klammern festgehalten wird (Fig. 62). 2. Pipetten mit Teilung 1—3 *cm*³ und langausgezogenen Spitzen (sogenannte Sauerstoffpipetten). 3. Eisenfreie Manganchloridlösung (80 : 100). 4. Salzsäure spez. Gew. 1·19. 5. Eine Lösung von jodsäurefreiem Kaliumjodid in 33prozentiger Natronlauge (10 : 100). 6. Eine auf Jod eingestellte Thiosulfatlösung.

Fig. 62.



Die bei der Bestimmungsmethode eintretenden Reaktionen erfolgen nach den Gleichungen:

$$2\ Mn\ Cl_2 + 4\ NaOH = 2\ Mn\ (OH)_2 + 4\ NaCl$$
$$2\ Mn(OH)_2 + O + H_2O = 2\ Mn\ (OH)_3$$
$$2\ Mn(OH)_3 + 6\ HCl = 2\ MnCl_2 + 3\ H_2O + 2\ Cl$$
$$2\ Cl + 2\ K\ J = 2\ KCl + 2\ J$$

Es entsprechen also 16 Gew.-Teile Sauerstoff 2 × 127 Jod oder 127 *g* Jod entsprechen 8 *g* Sauerstoff.

Ausführung: Dieselbe hat direkt nach der Entnahme der Probe zu geschehen. Die Flasche wird vorsichtig unter Vermeidung von Luftblasen mit dem Wasser gefällt und mit dem Glasstopfen verschlossen. Auch dabei darf zwischen Hals und Stopfen keine Luftblase resultieren.

Man hebt sodann vorsichtig den Stopfen und läßt aus einer Sauerstoffpipette auf den Boden der Flasche 3 *cm*³ jodkalihaltiger Natronlauge, sodann 3 *cm*³ Manganochloridlösung einlaufen, setzt den Stopfen auf und sichert ihn durch die Klammer. Man schüttelt einigemal um, öffnet wieder und läßt in derselben Weise 3 *cm*³ Salzsäure eintreten. Nach abermaligem Schließen wird der Niederschlag durch Schütteln in Lösung gebracht, der Inhalt der Flasche in ein größeres Becherglas gegossen, nachgespült und nach Zusatz von Stärkelösung das freie Jod mittelst Thiosulfatlösung, welche auf Jod eingestellt ist, ermittelt. Bei der Berechnung ziehe man in Betracht, daß durch das Einlaufenlassen der Manganchloridlösung und der jodkaliumhaltigen Natronlauge 6 *cm*³ Wasser verdrängt wurden, welche von dem Gefäßinhalt abzuziehen sind.

[1]) *L. W. Winkler,* Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffs. Ber. d. chem. Ges. Bd. **21** (1888). 2844 und 22 (1889). 1764.

Bei Gegenwart erheblicher Mengen von Nitriten setzt man vor Beginn der Sauerstoffbestimmung dem Wasser 0·1 *g* Harnstoff und 1 cm^3 Schwefelsäure (1 : 4) zu, läßt verstöpselt 3 Stunden stehen und nimmt erst dann die Sauerstoffbestimmung vor. Unter diesen Umständen ist alles Nitrit durch den Harnstoff zerstört.

Aufbewahrte Wasserproben ergeben meist weniger Sauerstoff als im frischen Zustande, da ein Teil des Sauerstoffs zu Oxydationsvorgängen im Wasser verbraucht worden ist. Es kann sich um die Oxydation anorganischer (z. B. Eisen) wie organischer Körper handeln. Die Differenz, welche sich auf diese Weise ergibt, auf eine Stunde berechnet, nennt man Sauerstoffzehrung. Sie kann einen gewissen Maßstab für die Anwesenheit und Menge der oxydierbaren Körper bilden. Zu ihrer Bestimmung läßt man eine mit Wasser gefüllte Flasche ohne Zusätze 48 Stunden vor Licht geschützt stehen und nimmt dann die Sauerstoffbestimmung vor. Handelt es sich um Abwässer, so findet letztere bereits nach 6, 12 resp. 24 Stunden statt.

Die gefundene Sauerstoffmenge wird selten der Menge entsprechen, welche das Wasser unter dem obwaltenden Druck und der herrschenden Temperatur aufzunehmen imstande wäre. Die Differenz zwischen dieser und der gefundenen Menge wird Sauerstoffdefizit genannt. Wasser vermag zu lösen bei 760 *mm* Druck.

Temperatur	Sauerstoff in *mg* pro Liter	Sauerstoff in cm^3 pro Liter
0°	14·57	10·19
1°	14·17	9·91
2°	13·79	9·64
3°	13·43	9·39
4°	13·07	9·14
5°	12·74	8·91
6°	12·41	8·68
7°	12·11	8·47
8°	11·81	8·26
9°	11·53	8·06
10°	11·25	7·87
11°	11·00	7·69
12°	10·75	7·52
13°	10·51	7·35
14°	10·28	7·19
15°	10·07	7·04
16°	9·85	6·89
17°	9·65	6·75
18°	9·45	6·61
19°	9·27	6·48
20°	9·10	6·36

Bestimmung des Schwefelwasserstoffes.

Gute Wässer sind frei von Schwefelwasserstoff, doch kommt derselbe nicht nur als regelmäßiges Fäulnisprodukt in Abwässern verschiedener Art, sondern, abgesehen von eigentlichen Schwefelquellen, gelegentlich auch im Grundwasser vor. In letzterem Falle verdankt er seine Entstehung keinem biologischen Prozesse, sondern höchstwahrscheinlich der Einwirkung von Kohlensäure und Wasser auf im Boden befindliche Sulfide, z. B. Schwefelkies. Man kann oft in Enteisenungsanlagen den Geruch nach Schwefelwasserstoff bemerken.

Zum qualitativen Nachweis, soweit der Geruch nicht allein entscheidet, füllt man das Wasser in einen Kolben, verschließt lose mit einem Kork, an welchem ein mit alkalischer Bleilösung getränktes Papier befindlich, und erwärmt schwach. Schwefelwasserstoff färbt das Papier braun bis schwarz. Sind Sulfide vorhanden, so muß durch Zusatz von Säuren der Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzt werden.

Ein weiterer, sehr empfindlicher Nachweis ist die Methylenblaureaktion.[1] Wenn Dimethylparaphenylendiamin mit Schwefelwasserstoff und einem Oxydationsmittel, z. B. Ferrichlorid, zusammenkommt, so entsteht Methylenblau. *Caro*sche Reaktion:

$$2\,C_6H_4(N(CH_3)_2)_2 + SH_2 + O_2 = C_6H_3(N(CH_3)_2)_2 - S - C_6H_3(N(CH_3)_2)_2 + 2\,H_2O.$$

Man versetzt 250 *cm*³ des Wassers mit 5—6 *cm*³ konzentrierter Salzsäure und einer sehr kleinen Menge Dimethylparaphenylendiamin, schüttelt bis zur Lösung um und fügt einige Tropfen Eisenchloridlösung zu. Die Blaufärbung tritt entweder sofort oder nach 20 Minuten ein. Größere Mengen von Nitriten stören die Reaktion. Um Schwefelwasserstoff quantitativ zu bestimmen, versetzt man das Wasser mit Stärkekleister und titriert den Schwefelwasserstoff mit $^1/_{10}$ resp. $^1/_{100}$ Normaljodlösung, oder kolorimetrisch mit Nitroprussidnatrium, welches mit Sulfiden eine violette Färbung gibt. Als Vergleichsflüssigkeit dient eine verdünnte Schwefelwasserstofflösung, deren Gehalt man direkt vor Ausführung des Versuchs mit Jod titrimetrisch festgestellt hat. Man versetzt 200 *cm*³ Wasser mit 2 *cm*³ Natronlauge, läßt die ausgeschiedenen Erdalkalien klar absetzen, gießt 100 *cm*³ in den einen *Hehner*schen Zylinder und gibt 1 *cm*³ Nitroprussidnatrium zu. Im zweiten Zylinder befindet sich reines Wasser mit 1 *cm*³ Nitroprussidnatrium und 1 *cm*³ Natronlauge, welchem man aus einer Bürette solange titriertes Schwefelstoffwasser zulaufen läßt, bis die Farbengleichheit hergestellt ist.

Bestimmung der suspendierten Stoffe.

Je nach der Trübung werden 500 *cm*³ bis mehrere Liter Wasser durch einen mit dünner Asbestlage ausgefütterten, bei 100° getrockneten

[1] *E. Fischer*, Ber. d. chem. Ges. Bd. 16. 2234. 1883.

und gewogenen Goochtiegel filtriert; der Tiegel wird bei 100° bis zum konstanten Gewicht getrocknet und wieder gewogen. Der Filtrierinhalt kann weiter mikroskopisch untersucht werden, oder man glüht ihn und erfährt so die Menge des verbrennlichen und unverbrennlichen Teiles. Das filtrierte Wasser ohne das etwaige Waschwasser dient zu allen weiteren Untersuchungen. Eine Bestimmung der suspendierten Stoffe nach dem Volumen hat *Dost* [1]) angegeben.

Bestimmung des Gesamtrückstandes.

Die Ermittlung des Gesamtrückstandes hat nur unter bestimmten Bedingungen für die Beurteilung des Wassers Wert, in den meisten Fällen kann sie unterbleiben. 200 cm^3, eventuell mehr, werden in einer gewogenen Platinschale über sehr kleiner Flamme oder besser auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird bei 110° bis 130° getrocknet und gewogen. Die Trockentemperatur richtet sich danach, ob viele organische Stoffe vorhanden sind oder nicht. Ist dies der Fall, so wird ein Teil der organischen Stoffe bei 130° bereits zersetzt, andrerseits verlieren bei niederer Temperatur manche anorganische Salze, besonders Sulfate, ihr Kristallwasser nicht. Unter allen Umständen ist es erforderlich, in der Analyse die Trockentemperatur anzugeben, um Differenzen bei etwaigen Kontrollen zu vermeiden.

Der gewogene Trockenrückstand wird geglüht, man erfährt so den Glührückstand. Seine Bestimmung ist jedoch, weil mit vierlei Fehlern behaftet, ungenau, außerdem von geringer Bedeutung. Man kann den Glührückstand zur Bestimmung von Kalk und Magnesia, eventuell anderen nicht flüchtigen Substanzen benutzen.

Kalk und Magnesia.

Die Menge des Kalkes und der Magnesia, welche als Bikarbonate, Sulfate, Chloride, Nitrate etc. im Wasser vorkommen, bedingt die Härte desselben. Zu ihrer quantitativen Bestimmung verwendet man entweder den Rückstand, oder man dampft 200—500 cm^3 Wasser unter Zusatz von etwas Salzsäure auf 100—200 cm^3 ein. Im ersteren Falle wird der Rückstand in salzsäurehaltigem Wasser unter Erwärmen gelöst (Vorsicht, daß durch die entwickelte CO_2 kein Verlust entsteht). Man setzt etwas Ammoniumchlorid, dann Ammoniak zu und filtriert von Eisenhydroxyd und Aluminiumhydroxyd ab. Das Filtrat wird mit Ammoniumoxalat in genügender Menge versetzt, der Niederschlag, der sich in der Wärme leicht absetzt, abfiltriert, ausgewaschen, getrocknet und geglüht. Man kann ihn in bekannter Weise entweder als $CaCO_3$ oder als CaO auf die Wage bringen. Im Filtrat, welches weiter eingedampft wird, fällt man mittelst Natriumphosphat und NH_3 die Magnesia und wägt sie als Magnesiumpyrophosphat.

[1]) *Dost,* Mitteil. aus d. Kgl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung. H. 8. S. 204 (1907).

Schneller läßt sich der Kalk titrimetrisch bestimmen. Man bringt zu diesem Zwecke den auf dem Filter befindlichen ausgewaschenen Niederschlag von Kalziumoxalat samt Filter in ein größeres Becherglas und löst ihn darin in sehr verdünnter Schwefelsäure unter Erwärmen. In der Lösung bestimmt man nach Zusatz von mehr Schwefelsäure in der Hitze durch Titrieren mit Kaliumpermanganat die Oxalsäure und somit auch den Kalk. Man verwendet eine $^1/_{10}$ normale oder auf Oxalsäure von bestimmtem Gehalt eingestellte Permanganatlösung. Von ersterer entspricht 1 cm^3 0·0028 CaO.

Bestimmung der Härte.

Wie erwähnt, ist die Härte eines Wassers durch Kalk und Magnesia bedingt und wird am genauesten auch durch quantitative Bestimmung dieser beiden Körper festgestellt. Die Härte spielt für die Verwendung des Wassers eine große Rolle, und ihre Bestimmung gehört zu den regelmäßigen Manipulationen bei Wasseruntersuchungen.

Man hat sich geeinigt, die Härte eines Wassers nicht in Mengen Kalk und Magnesia anzugeben, sondern in Graden, welche in verschiedenen Ländern nach verschiedener Weise berechnet werden. In Deutschland bedeutet ein Härtegrad 1 Teil Kalziumoxyds oder der äquivalenten Menge Magnesiumoxyd in 100.000 Teilen Wasser. Wenn also z. B. 12 Teile Kalk in 100.000 Wasser oder, was dasselbe sagt, 120 *mg* in einem Liter gefunden wurden, so hat das Wasser 12 deutsche Härtegrade. In Frankreich legt man nicht die Menge Kalziumoxyd, sondern Kalziumkarbonat zugrunde. 1 deutscher Härtegrad entspricht demnach 1·79 französischen; umgekehrt ein französischer 0·56 deutschen. Da die Äquivalente von Kalziumoxyd und Magnesiumoxyd sich verhalten wie 28 : 20, so braucht man die Menge der gefundenen Magnesia nur mit 1·4 zu multiplizieren und dem Wert der Kalkmenge zuzufügen.

Beispiel: Gefunden wurden im Liter 60 *mg* CaO und 25 *mg* MgO. Die Härte ist

	60 für CaO
+ 25 × 1·4	35 für MgO
	95 *mg* CaO

d. h. 9·5° in deutschen Graden ausgedrückt.

Die als Bikarbonate vorhandenen Teile Kalk und Magnesia verlieren beim Kochen des Wassers einen Teil ihrer Kohlensäure, gehen in Monokarbonate über und fallen aus, das Wasser wird also beim Kochen weicher. Die dann noch vorhandene Härte wird durch Sulfate, Chloride usw. bedingt. Man unterscheidet dementsprechend zwischen Gesamthärte und bleibender Härte, die Differenz zwischen beiden heißt vorübergehende oder temporäre, auch Karbonathärte.

Da die quantitative Bestimmung von Kalk und Magnesia umständlich und zeitraubend ist, die Härte aber oft rasch ermittelt werden muß, sind rascher zum Ziele führende Bestimmungsmethoden ausgearbeitet wor-

den, von denen die gebräuchlichste, meist auch gute Resultate gebende auf einer Titration mit Seifenlösung beruht. Setzt man zu Lösungen der Erdalkalien Seifenlösung, so scheiden sich fettsaure Erdalkalien aus, und die zugesetzte Seife verliert so lange ihre Eigenschaft, beim Schütteln Schaum zu erzeugen, bis erstere sämtlich unlöslich geworden sind. Hierauf beruht die Bestimmung der Härte nach *Clark*. Derselbe benützt eine Kaliseifenlösung, welche so normiert ist, daß 45 *cm*³ genau 12 *mg* CaO, welche in 100 *cm*³ Wasser enthalten sind, binden. Man kann solche Seifenlösung im Handel haben; über die Selbstdarstellung siehe „Reagenzien". Bedingung ist, daß nie mehr als 45 *cm*³ Seifenlösung verbraucht werden, weil die Bestimmung sonst ungenau wird; ist die Härte eines Wassers also größer als 12°, so muß es mit destilliertem Wasser verdünnt werden; stets geschieht die Ermittlung in 100 *cm*³.

Ausführung: In ein Glasstöpselglas mit weitem Halse von ca. 200 bis 300 *cm*³ Inhalt bringt man 100 *cm*³ des Wassers, läßt von der in einer Bürette befindlichen Seifenlösung zufließen, anfangs schneller, zuletzt langsam und tropfenweise, bis nach jedesmaligem Aufsetzen des Stopfens und Schütteln von oben nach unten ein leichter Schaum auftritt, welcher einige Minuten stehen bleibt. Die verbrauchte Seifenlösung ist nicht genau proportional den Härtegraden, sondern es entsprechen 11·3 *cm*³ beispielsweise 2·5°, aber 22·6 nicht 5, sondern 5·5°. Man hat daher eine empirische Tabelle entworfen, aus der leicht die wahren Härtegrade zu berechnen sind:

Tabelle von *Faisst* und *Knauss* (nach *Tiemann-Gärtner*).

Verbrauchte Seifenlösung	Härtegrad
3·4 *cm*³	0·5
5·4 „	1·0
7·4 „	1·5
9·4 „	2·0
Die Differenz von 1 *cm*³ Seifenlösung	0·25
11·3 *cm*³	2·5
13·2 „	3·0
15·1 „	3·5
17·0 „	4·0
18·9 „	4·5
20·8 „	5·0
Die Differenz von 1 *cm*³ Seifenlösung	0·26
22·6 *cm*³	5·5
24·4 „	6·0
26·2 „	6·5
28·0 „	7·0
29·8 „	7·5
31·6 „	8·0

Verbrauchte Seifenlösung	Härtegrad
Die Differenz von 1 cm^3 Seifenlösung . .	0·277
33·3 cm^3	8·5
35·0 „	9·0
36·7 „	9·5
38·4 „	10·0
40·1 „	10·5
41·8 „	11·0
Die Differenz von 1 cm^3 Seifenlösung . .	0·294
43·4 cm^3	11·5
45·0 „	12·0
Die Differenz von 1 cm^3 Seifenlösung . .	0·31

Der Gebrauch der Tabelle ist einfach. Finden sich die verbrauchten Kubikzentimeter Seifenlösung in der Tabelle verzeichnet, so liest man die dadurch angezeigten Härtegrade direkt ab. Im anderen Falle sucht man die den gefundenen Kubikzentimetern Seifenlösung zunächst stehende Zahl in der Tabelle links auf und notiert den entsprechenden Härtegrad. Die Differenz zwischen der Zahl der Tabelle und der gefundenen multipliziert man mit den zunächst darunter angegebenen Bruchteilen eines Härtegrades, welche der Differenz von 1 cm^3 Seifenlösung entsprechen. Darauf subtrahiert oder addiert man das so erhaltene Produkt von oder zu den zuerst notierten Härtegraden, je nachdem die gefundene Zahl von einer Tabellenzahl oder einer Tabellenanzahl von der gefundenen abgezogen war.

Beispiel: Es wurden 50 cm^3 Wasser mit 50 cm^3 destilliertem Wasser auf 100 cm^3 verdünnt. Verbraucht wurden bis zur Schaumbildung 34·5 cm^3 Seifenlösung. 35·0 cm^3 = 9·0 Härtegrade. Differenz 0·5. 0·294 = 0·15. Demnach 9° — 0·15° = 8·85°. Das Wasser zeigte demnach, da es von 50 auf 100 verdünnt war, eine Härte von 17·7°.

Die temporäre oder Karbonathärte kann so ermittelt werden, daß zunächst die Gesamthärte bestimmt, darauf das Wasser längere Zeit unter Ersatz des verdampfenden Wassers gekocht, zum ursprünglichen Volum aufgefüllt, filtriert und wieder titriert wird. Die Differenz ist die Karbonathärte. Schneller arbeitet man nach *Wartha-Pfeiffer*. Da die Bikarbonate auf gewisse Farbstoffe wie Alkalien reagieren, so kann ihre Menge durch Titrieren mit Säure unter Anwendung dieser Farbstoffe als Indikatoren ermittelt werden. Zweckmäßig bedient man sich des Alizarins in alkoholischer Lösung. Alkalien färben dasselbe zwiebelrot, Säuren gelb. Man verwendet 100—200 cm^3 Wasser, setzt einige Tropfen Farbstoff und solange $^1/_{10}$ oder $^1/_{100}$ normal Salzsäure zu, bis der Umschlag in gelb erfolgt. Die Flüssigkeit wird einige Zeit gekocht, und wenn die rote Farbe wieder auftreten sollte, noch weitere Säure bis zur bleibenden Gelbfärbung zugesetzt. 1 cm^3 $\frac{n}{10}$-Salzsäure entspricht 2·8 *mg* CaO. Verwendet man 100 cm^3 Wasser,

so braucht man also nur die verbrauchten Kubikzentimeter Säure mit 2·8 zu multiplizieren, um die Karbonathärte in deutschen Graden zu erhalten.

Indirekte Bestimmung der Magnesia.

Hat man den Kalk direkt durch Gewichts- oder Maßanalyse ermittelt, so läßt sich der Magnesiagehalt aus der Gesamthärte berechnen. Man zieht von derselben den Kalk ab und multipliziert den Rest mit $\frac{20}{28} = 0·71$.

Beispiel: Gefundene Härte 15·8°, Kalk 11·3 *mg* im Liter. 15·8—11·3 = = 4·5; 4·5 + 0·71 = 3·19 *mg* Magnesia.

Die Bestimmung von Aluminium, Kieselsäure, Alkalien hat für die gewöhnliche Wasseranalyse meist keine Bedeutung. Die Ermittlung und quantitative Bestimmung dieser Körper geschieht, wo es erforderlich erscheint, nach den üblichen analytischen Methoden, von Wert können solche Arbeiten bei Abwässern sein.

Bestimmung des Eisens.

Eisen ist in natürlichen Wässern meist in sehr geringer Menge vorhanden. Es kann gelöst oder suspendiert sein, daher muß bei Analysen angegeben werden, ob die Eisenbestimmung im filtrierten oder unfiltrierten Wasser ausgeführt worden ist. Bei erheblicheren Mengen treten die gewöhnlichen analytischen Methoden in Kraft, nach denen das Eisen gewichts- oder maßanalytisch ermittelt wird. Bei geringen Mengen, wie sie meist vorhanden sind, bedient man sich besser kolorimetrischer Methoden. Die bequemste und genaueste ist die Bestimmung mit Rhodankalium, welches mit Eisenoxydsalzen eine intensiv blutrote Farbe erzeugt. Da im natürlichen Wasser das gelöste Eisen in der Form des Oxyduls auftritt, ist es erforderlich, letzteres in Oxydsalz überzuführen. Zu dem Zwecke versetzt man 100—200 *cm*³ Wasser mit 5—10 *cm*³ Salzsäure und Bromwasser bis zur Gelbfärbung und kocht, bis der Geruch nach Brom verschwunden ist. Darauf füllt man auf das ursprüngliche Volum auf, oder konzentriert auf die Hälfte bei sehr geringen Eisenmengen, bringt in einen *Hehner*schen Zylinder und setzt 1 *cm*³ einer 10%igen Rhodankaliumlösung zu. Im zweiten Zylinder erzeugt man die Kontrollfärbung mittelst einer Eisenlösung von bekanntem Gehalt, welche man durch Auflösen einer gewogenen Menge Eisenammoniakalaun in Wasser oder von einem Eisendraht in Bromsalzsäure bereitet. Durch Ablassen von Flüssigkeit aus dem einen oder anderen Zylinder stellt man Farbengleichheit her.

Beispiel: 100 *cm*³ Wasser waren, mit Salzsäure und Bromwasser gekocht und wieder auf 100 *cm*³ aufgefüllt, in den *Hehner*schen Zylinder gebracht und mit Rhodankalium versetzt worden. Im Kontrollzylinder kamen zu 90 *cm*³ destilliertem Wasser 3 *cm*³ Eisenlösung, welche im Liter 1 *g* Fe enthielt, darauf 5 *cm*³ Salzsäure und 1 *cm*³ Rhodankalium, wonach auf 100 *cm*³ aufgefüllt und gemischt wurde. Es mußten 75 *cm*³ bis zur

Farbengleichheit abgelassen werden. Da in den 100 *cm*³ 0·003 *g* Fe enthalten waren, so enthalten die restlichen 25 *cm*³ $\frac{0·003}{4}$ 0·00075 Fe, die 100 *cm*³ des zu untersuchenden Wassers also ebensoviel, oder im Liter waren 7·5 *mg* Eisen enthalten. Viele organische Substanzen stören die Reaktion, in solchen Fällen verdampft man mit Salzsäure und Kaliumchlorat bis zur Trockne und nimmt dann wieder in Wasser auf; der größere Teil der organischen Substanzen, wenigstens soweit sie störend wirken, wird auf diese Weise unschädlich gemacht oder zerstört.

Bestimmung des Mangans.

Mangan findet sich öfters in den meist für Eisenoxyd gehaltenen braunen Bodensätzen, auch wird es wie dieses durch die Lebenstätigkeit von Organismen aus Wässern ausgeschieden und aufgespeichert, bisweilen kommt es auch in Spuren oder größeren Mengen gelöst vor. Es kann durch später erfolgende Ausscheidung Schaden in verschiedenen Industrien, wie Bleichereien, Papierfabriken usw. anrichten. Zu seinem Nachweis verdampft man nicht zu geringe Mengen Wasser unter Zusatz von Salpetersäure resp. löst den Bodensatz in wenig Salpetersäure, fügt noch einige Kubikzentimeter mäßig starke Salpetersäure zu und kocht sodann mit einer Messerspitze voll Bleisuperoxyd. Sobald sich letzteres absetzt, erscheint die überstehende Flüssigkeit durch gebildete Übermangansäure rot. Die Reaktion ist sehr empfindlich und läßt sich zu einer kolorimetrischen Bestimmung verwenden. Die mit Bleisuperoxyd gekochte Flüssigkeit muß dann durch ein kleines Asbestfilter, welches vorher mit Salpetersäure gekocht war, in den *Hehner*schen Zylinder filtriert werden. Als Vergleichsflüssigkeit dient eine Lösung von Kaliumpermanganat. Man kann dazu die gebräuchliche $^1/_{10}$-Permanganatlösung verwenden, von welcher 1 *cm*³ 1·1 *mg* Mangan entspricht. Bei Anwesenheit größerer Manganmengen versetzt man das Wasser mit Ammoniumpersulfat, so daß auf 1 Teil Mangansalz wenigstens 2 Teile Persulfat kommen, erhitzt mehrere Minuten zum Kochen, filtriert das abgeschiedene Mangansuperoxyd auf ein Asbestfilter, bringt dieses mit Niederschlag in ein Becherglas, setzt gemessene Mengen normal oder $\frac{n}{10}$ normal Oxalsäure und verdünnte Schwefelsäure zu, erwärmt auf 80°, verdünnt mit kochendem Wasser und titriert die unzersetzte Oxalsäure mit Permanganat. Jeder Kubikzentimeter der verbrauchten $\frac{n}{10}$-Oxalsäure entspricht 2·75 *mg* Mn.

Statt der Oxalsäure wird auch vielfach Wasserstoffsuperoxyd verwendet, welches auf Permanganat eingestellt ist. Die Zersetzung erfolgt in diesem Falle nach der Gleichung $H_2O_2 + MnO_2 + H_2SO_4 = 2H_2O + 2O + MnSO_4$.

Blei.

Gewisse Wässer, besonders sehr weiche und viel Sauerstoff, Kohlensäure, Chloride und Sulfate enthaltende, besitzen die Fähigkeit, aus Blei-

röhren, bleihaltigen Lötstellen und dgl. Blei aufzunehmen und dadurch gesundheitsschädliche Eigenschaften zu erlangen. Wenn die gelösten Bleimengen auch nur gering sind, so können sie doch, bei fortdauerndem Genuß, durch ihre kumulierenden Eigenschaften die Gesundheit schädigen. In den meisten Fällen wird ein qualitativer Nachweis genügen. Man versetzt in einem Zylinder etwa 100 cm^3 Wasser mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure, sodann mit 50 cm^3 starken Schwefelwasserstoffwassers. Eine Braunfärbung, welche sich bis zum Niederschlage steigern kann, deutet Blei an. In Abwässern chemischer Industrien, Metallfabriken etc. kann das Blei natürlich in größeren Mengen vorkommen, man bestimmt es dann im eingedampften Wasser, ebenso wie etwa vorhandenes Kupfer, Zink und andere Metalle nach bekannten Methoden.

Arsen.

Arsen kann sich in Abwässern finden, beispielsweise in Gerbereiabwässern, wenn die Gerberei die Enthaarung der Häute mittelst Ätzkalk und Auripigment vornimmt. Außer dem gewöhnlichen sehr empfindlichen Nachweis mittelst des *Marsh*schen Apparates sei hier ein schnell zum Ziele führender, ebenfalls äußerst empfindlicher biologischer Nachweis angeführt.[1] Man sterilisiert in einem Kölbchen mit Watteverschluß zerquetschte gekochte Kartoffeln, oder Brot, beide mit Wasser zu einem Brei angerührt, bringt das zu Untersuchende auf ein sehr kleines Volum eingedampfte Wasser hinzu und impft mit dem Schimmelpilz Penicillium brevicaule. Derselbe hat die Eigenschaft, beim Wachsen bei gewöhnlicher Temperatur oder im Brutschrank auf arsenhaltigem Material flüchtige, widerlich riechende Produkte zu erzeugen. Bei Anwesenheit schon von Spuren Arsen tritt demnach nach einem oder mehreren Tagen dieser charakteristische Geruch auf.

Bestimmung der Chloride.

1. Nach *Mohr*.

Erforderlich: $\frac{n}{10}$-Silbernitratlösung; Lösung von Kaliumchromat (10%).

100 cm^3 Wasser oder mehr werden mit 3—5 Tropfen Kaliumchromat und so lange mit $\frac{n}{10}$-Silberlösung versetzt, bis der anfangs rein weiße Niederschlag eine schwach rötliche Färbung annimmt, welche beim Umrühren nicht mehr verschwindet. 1 cm^3 $\frac{n}{10}$-Ag-Lösung = 3·54 *mg* Cl.

Enthält das Wasser viele organische Substanzen oder Schwefelwasserstoff (Abwasser), so versetzt man es mit reinem Permanganat, kocht, ent-

---

[1]) *Maassen,* Die biologische Methode *Gosio*s zum Nachweis des Arsens und die Bildung organischer Arsen-, Selen- und Tellurverbindungen durch Schimmelpilze und Bakterien. Arb. aus d. Kais. Ges.-Amt. 18. S. 475 (1902).

färbt eventuell mit einigen Tropfen Alkohol, filtriert und titriert erst dann mit Silberlösung.

2. Nach *Volhardt:*

Erforderlich: $\frac{n}{10}$-Silberlösung und gleichwertige Rhodanammonlösung; eine Lösung von Eisenammoniakalaun.

100 cm^3 Wasser oder mehr versetzt man mit einem gewissen Überschuß der Silberlösung, fügt einige Tropfen Eisenammoniakalaun und soviel Salpetersäure zu, daß die Flüssigkeit wieder farblos erscheint, und titriert mit der Rhodanammonlösung das überschüssige Silber bis zur schwachen Rotfärbung.

Sulfate.

Die Bestimmung der gebundenen Schwefelsäure geschieht im Wasser direkt oder nach dem Eindampfen mit etwas Salzsäure durch Fällen mit Bariumchlorid und Wägen des Bariumsulfates. Bei stark eisenhaltigen Wässern, z. B. Abwässern, muß der Niederschlag vor dem Abfiltrieren wiederholt mit Salzsäure ausgekocht werden.

Nitrate.

Qualitativer Nachweis.

1. Man gibt in ein Porzellanschälchen einige Körnchen Diphenylamin, fügt einige Kubikzentimeter konzentrierte salpetersäurefreie Schwefelsäure zu und läßt nach der Lösung von der Seite her aus einer Pipette langsam das Wasser zulaufen. Salpetersäure zeigt sich durch Blaufärbung an. Wie Salpetersäure wirkt salpetrige Säure.

2. Man verdampft einige Kubikzentimeter Wasser in einem Schälchen, versetzt mit einer Spur Bruzin und läßt reine konzentrierte Schwefelsäure zufließen. Es entsteht bei Salpetersäureanwesenheit Rotfärbung. Ist die Schwefelsäure in starkem Überschuß vorhanden, so stört salpetrige Säure nicht.

Quantitative Bestimmung.

Die genaueste, allerdings auch zeitraubendste Bestimmung ist die von *Schulze-Tiemann* ausgearbeitete. Sie beruht auf der Überführung von Salpetersäure in Stickoxyd durch Ferrosalze in saurer Lösung und Messen des Stickoxyds. Ausführung (nach *Tiemann-Gärtner*) (Fig. 65): 100—300 cm^3 des zu prüfenden Wassers werden in einer Schale vorsichtig bis zu etwa 50 cm^3 eingedampft und diese zusammen mit den etwa durch das Kochen abgeschiedenen Erdalkalimetallkarbonaten in ein ca. 150 cm^3 fassendes Kölbchen *A* gebracht.

Nitrate gehen in den beim Einkochen sich bildenden Niederschlag nicht über. Es ist daher nicht nötig, die Teile desselben, welche fest an den Wandungen des Abdampfgefäßes haften, vollständig in den Zersetzungskolben zu bringen, sondern es genügt, die Schale einige Male mit wenig

heißem Wasser auszuwaschen. Der Zersetzungskolben *A* ist mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen, in dessen Durchbohrungen sich zwei gebogene Röhren *abc* und *efg* befinden. Die erstere ist bei *a* zu einer nicht zu feinen Spitze ausgezogen und ragt etwa 2 *cm* unter dem Stopfen hervor; die zweite Röhre schneidet genau mit der unteren Fläche des Stopfens ab. Die beiden Röhren sind bei *c* und *g* durch enge Kautschukschläuche mit den Glasröhren *cd* und *gh* verbunden und an diesen Stellen durch Quetschhähne verschließbar. Über das untere Ende der Röhre *gh* ist ein Kautschukschlauch gezogen, um sie vor dem Zerbrechen zu schützen. *B* ist eine mit 10⁰/₀iger Natronlauge gefüllte Glaswanne, *C* eine in $^1/_{10}$ cm^3 geteilte möglichst enge, mit ausgekochter Natronlauge gefüllte Meßröhre.

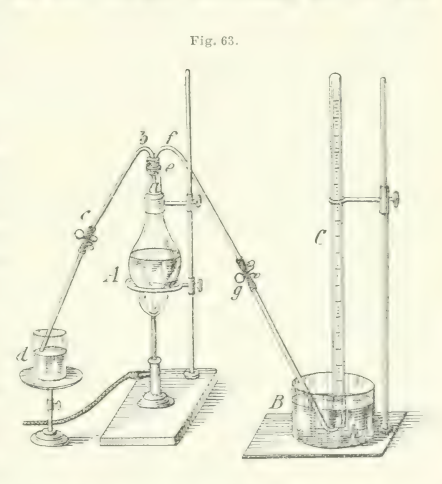


Fig. 63.

Man kocht bei offenen Röhren das zu prüfende Wasser in dem Kochfläschchen noch weiter ein und bringt nach einiger Zeit das untere Ende des Entwicklungsrohres *efgh* in die Natronlauge, so daß die aus dem Rohre entweichenden Wasserdämpfe durch die alkalische Flüssigkeit streichen. Nach einigen Minuten drückt man den Kautschukschlauch bei *g* mit den Fingern zusammen. Sobald durch Kochen die Luft vollständig entfernt worden ist, steigt die Natronlauge schnell wie in ein Vakuum zurück, und man fühlt einen gelinden Schlag am Finger. Man setzt in diesem Falle bei *g* den Quetschhahn auf und läßt die Wasserdämpfe durch *abcd* entweichen, bis nur noch ca. 10 cm^3 Flüssigkeit in dem Zersetzungskolben vorhanden sind. Hierauf entfernt man die Flamme, schließt bei *c* mittelst Quetschhahns und spritzt die Röhre *cd* mit Wasser voll. In dem Kautschukschlauch bei *c* bleibt leicht ein Luftbläschen zurück, welches man durch Drücken mit dem Finger entfernen muß. Man schiebt nun die Meßröhre *C* über das untere Ende des Entwicklungsrohres *efgh*, so daß dieses 2—3 *cm* in jene hineinragt. Man wartet einige Minuten, bis sich im Innern des Kolbens *A* ein Vakuum durch Zusammenziehen der Schläuche bei *c* und *g* zu erkennen gibt. Inzwischen gießt man nahezu gesättigte Eisenchlorürlösung in ein kleines Becherglas, welches in seinem oberen Teile zwei Marken trägt, den von 20 cm^3 Flüssigkeit darin eingenommenen Teil bezeichnend; zwei andere Gläser stellt man, mit konzentrierter Salzsäure

teilweise gefüllt, bereit. Man taucht darauf die Röhre *cd* in die Eisenchlorürlösung, öffnet den Quetschhahn bei *e* und läßt vorsichtig 15 bis 20 cm^3 von der Lösung einsaugen. Die letztere entfernt man aus der Röhre *abcd*, indem man zweimal etwas Salzsäure nachsteigen läßt. Man bemerkt häufig bei *b* eine kleine Gasblase; gewöhnlich besteht dieselbe aus Salzsäuregas, welches bei dem obwaltenden geringen Druck sich aus der starken salzsauren Flüssigkeit entwickelt.

Man erwärmt den Kolben anfangs gelinde, bis die Kautschukschläuche bei *e* und *g* anfangen sich aufzublähen. Nun ersetzt man den Quetschhahn bei *g* durch Daumen und Zeigefinger und läßt, sobald der Druck stärker wird, das entwickelte Stickoxyd nach *C* übersteigen. Gegen Ende der Operation verstärkt man die Flamme und destilliert, bis sich das Gasvolumen in *C* nicht mehr vermehrt. Um die letzten Reste Stickoxyd aus dem Kolben überzutreiben, schließt man jetzt den Quetschhahn bei *g* und entfernt die Flamme, nach einiger Zeit setzt man die Flamme abermals unter, öffnet den Quetschhahn vorsichtig und bringt so den Rest des Gases in die Meßröhre.

Danach entfernt man die Röhre *gh* aus der Meßröhre, löscht die Flamme aus, reinigt den Zersetzungsapparat durch Ausspülen mit salpetersäurefreiem Wasser und kann ihn alsdann ohne weiteres zu einem neuen Versuche verwenden.

Die Röhre wird in einen hohen Glaszylinder gebracht, welcher soweit mit kaltem Wasser, am besten von 15—18°, gefüllt ist, daß sie darin vollständig untergetaucht werden kann. Nach 15—20 Minuten bestimmt man die Temperatur des Wassers im Zylinder und notiert den Barometerstand. Darauf ergreift man die graduierte Röhre am oberen Ende mit einem Papierstreifen, zieht sie senkrecht soweit aus dem Wasser, daß die Flüssigkeit innerhalb und außerhalb der Röhre genau dasselbe Niveau hat und liest das Volum des Gases ab. Dasselbe wird nach folgender Formel auf 0° und 760 *mm* Barometerstand reduziert:

$$V_1 = \frac{V.(B-f).273}{760.(273+t)},$$

wobei V_1 das Volum bei 0° und 768 *mm* Barometerstand, V das abgelesene Volum, B den beobachteten Barometerstand in Millimetern, t die Temperatur des Wassers und f die von der letzteren abhängige Tension des Wasserdampfes in Millimetern bezeichnet.

Temperatur t	Tension f	Temperatur t	Tension f
10°	9·2 *mm*	17°	14·4 *mm*
11°	9·8 „	18°	15·3 „
12°	10·5 „	19°	16·3 „
13°	11·2 „	20°	17·4 „
14°	11·9 „	21°	18·5 „
15°	12·7 „	22°	19·7 „
16°	13·5 „	23°	20·9 „

Multipliziert man die durch V_1 ausgedrückten Kubikzentimeter Stickoxyd mit 2·417, so erhält man die demselben entsprechenden Milligramme $N_2 O_5$.

Bei dieser Methode wird salpetrige Säure mitbestimmt; um sie auszuschalten, versetzt man 100 *cm*³ Wasser, resp. soviel, wie man verwenden will, mit einigen Tropfen $H_2 SO_4$ und je 1 *g* Harnstoff pro 100 *cm*³ und läßt einige Stunden stehen. Vor dem Verdampfen muß die freie Schwefelsäure durch reine Natronlauge abgestumpft werden.

Bestimmung der Salpetersäure mit Indigolösung nach Marx-Trommsdorff.

Obschon diese Methode vielfach angefeindet worden ist, gibt sie bei Wässern, welche ungefärbt sind und nicht viele organische Substanzen enthalten, bei richtiger Ausführung recht befriedigende Resultate; sie ist durch ihre Schnelligkeit ausgezeichnet und beruht auf der Oxydation von Indigo durch Salpetersäure in stark schwefelsäurehaltiger Lösung. Schnelles Arbeiten ist Hauptbedingung des Gelingens.

25 *cm*³ des zu prüfenden Wassers versetzt man auf einmal mit 50 *cm*³ reiner konzentrierter Schwefelsäure. Zu der stark erhitzten Flüssigkeit läßt man unter starkem Umschwenken des Gefäßes aus einer Bürette Indigolösung fließen, bis die gelbe Färbung in eine schwachgrüne übergeht. Bei einem zweiten Versuche setzt man zuerst die im ersten Versuche verbrauchte Menge Indigolösung, dann die Schwefelsäure zu und titriert bis zur Grünfärbung zu Ende. Die Indigolösung soll so stark sein, daß 6—8 *cm*³ einem Milligramm Salpetersäure ($N_2 O_5$) entsprechen. Enthält ein Wasser in 25 *cm*³ mehr als 3, höchstens 4 *mg* Salpetersäure, so muß es verdünnt werden. Bereitung der Indigolösung siehe Reagenzien.

Bestimmung mittelst Nitrons.

100 oder mehr auf 100 *cm*³ eingedampftes Wasser wird fast zum Sieden erhitzt, mit 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure und 10—12 *cm*³ einer Lösung von 10 *g* Nitron (Diphenylendiamidodihydrotriazol) in 100 *cm*³ einer 5%igen Essigsäure versetzt. Nach zweistündigem Stehen im Eisschrank werden die abgeschiedenen Kristalle in einem Goochtiegel abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und bei 105° getrocknet. Der Niederschlag besitzt die Zusammensetzung $C_{20} H_{16} N_4 HNO_3$; durch Multiplikation des gefundenen Gewichts mit 0·168 erhält man die Menge der Salpetersäure (HNO_3).

Salpetrige Säure.

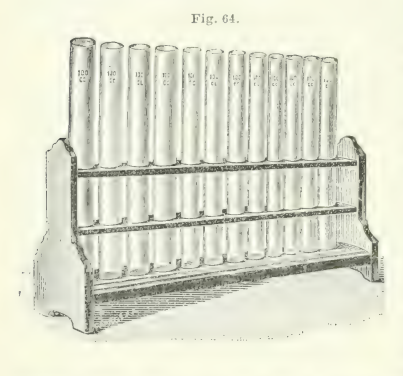
In gutem Trinkwasser befindet sich salpetrige Säure nicht oder nur in Spuren. Ihre Entstehung ist entweder auf Oxydation von Ammoniak oder auf Reduktion von Salpetersäure durch die Lebenstätigkeit von Bakterien zurückzuführen. Qualitativ und quantitativ geschieht der Nachweis und die Bestimmung durch Zusatz von Jodkalium oder Jodiden und

Stärkelösung in schwachsaurer Lösung. Die freie salpetrige Säure macht aus Jodiden Jod frei, welches Stärke blau färbt.

Ausführung: Erfordernisse: Jodzinkstärkelösung, verdünnte Schwefelsäure, eine Anzahl gleich weiter enger Zylinder mit Marke, 100 *cm*³ anzeigend (Fig. 64), eine Natriumnitritlösung von bekanntem Gehalt.

100 *cm*³ Wasser, bei stärkerem Gehalt an salpetriger Säure entsprechend weniger auf 100 *cm*³ verdünnt, werden in einem der Zylinder mit 2 *cm*³ Jodzinkstärkelösung und 1 *cm*³ einer verdünnten Schwefelsäure (1:3) versetzt und gemischt. Gleichzeitig fügt man dieselben Reagenzien in gleicher Menge zu dem in den übrigen Zylindern befindlichen destillierten Wasser, welchem man vor dem Auffüllen auf 100 *cm*³ 1, 1·5, 2, 2·5 etc. Kubikzentimeter der Nitritlösung von bekanntem Gehalt zugesetzt hat. Möglichst gleichzeitiges Arbeiten ist unbedingt erforderlich. Ist salpetrige Säure vorhanden, so färbt sich das zu untersuchende Wasser sofort oder nach wenigen Minuten mehr oder weniger intensiv blau und entspricht in seiner Intensität dem Inhalt eines der übrigen Zylinder. Man kann auch recht gut mit zwei *Hehner*schen Zylindern arbeiten. Die Vergleichsnitritlösung wählt man so stark, daß 1 *cm*³ 0·01 oder 0·005 *mg* N_2O_3 enthält. (Siehe Bereitung der Reagenzien.) Die Intensität der blauen Färbung darf natürlich die Durchsichtigkeit nicht beeinträchtigen, es ist in diesem Falle eine entsprechende Verdünnung vorzunehmen. Statt der Jodzinkstärkelösung kann man auch reines, festes, namentlich von Jodat freies Kaliumjodid verwenden und jedesmal aus löslicher Stärke frisch bereiteten Stärkekleister zusetzen. Die Reaktion ist sehr empfindlich, es gelingt noch recht gut $^1/_{10000000}$ N_2O_3 nachzuweisen. Bei Anwesenheit vieler organischer Substanzen sowie von Eisenoxydsalzen, besonders also in Abwässern, ist die Methode nicht anwendbar. Organische Substanzen absorbieren Jod, Eisenoxydsalze machen aus Jodiden Jod frei. In solchen Fällen empfiehlt sich die Metaphenylendiaminreaktion von *Preusse* und *Tiemann* (*Tiemann-Gärtner*, Wasseruntersuchung). Sie beruht auf der Bildung eines Azofarbstoffs: Triamidoazobenzol (Bismarckbraun). Auch hier verwendet man die Nitritlösung von bekanntem Werte als Vergleichsobjekt. 100 *cm*³ des Wassers werden im Glaszylinder mit 1 *cm*³ verdünnter Schwefelsäure und 1 *cm*³ Metaphenylendiaminlösung versetzt. Erscheint beim Umrühren mit einem Glasstabe sofort eine rote Färbung, so ist der Versuch mit 50, 20 oder weniger des Wassers zu wiederholen, welches auf 100 *cm*³

Fig. 64.



verdünnt worden war. Es genügt, wenn nach etwa 2 Minuten die Färbung eintritt. Mit der Vergleichsflüssigkeit operiert man in derselben Weise. Die Zylinder, welche man verwendet, wenn man nicht *Hehner*sche Zylinder benutzt, befinden sich zweckmäßig in einem Gestell, haben genau gleiche Weite und plangeschliffenen Boden. Beim Versuch hält man sie über eine weiße Fläche.

Stark gefärbte Wässer kann man vor Ausführung des Versuchs mit einigen Tropfen Alaunlösung, dann mit Ammoniak versetzen. Das ausgeschiedene Aluminiumhydroxyd klärt und entfärbt. Nach dem Absetzen gießt man die gewünschte Menge ab: Filtrieren durch Papier ist zu vermeiden, da dasselbe oft Spuren salpetriger Säure oder Chlor enthält.

Bestimmung des Ammoniaks.

Größere Mengen von Ammoniak deuten darauf hin, daß in dem Wasser Zersetzungsprozesse von stickstoffhaltigen Substanzen, besonders Eiweißkörpern und deren Abbauprodukten durch Mikroorganismen vor sich gehen oder gegangen sind. Ammoniak ist eine regelmäßig bei der Fäulnis entstehende Substanz. Für die Beurteilung von Wässern ist es daher von großer Bedeutung; reine Wässer enthalten gar kein oder nur Spuren von Ammoniak. Außer in verunreinigten kommt es aber auch gelegentlich in einwandfreien Wässern vor, z. B. in stark humusreichen Moorwässern. Abwässer können natürlich erhebliche Mengen enthalten. In solchen Fällen versetzt man das Wasser (250—500 *cm*³) mit reinem Magnesiumoxyd im Überschuß, destilliert auf $^1/_3$ ab und fängt das Destillat in titrierter Säure auf, welche man nach beendeter Destillation mit Alkali zurücktitriert. Das Abhalten von Ammoniakdämpfen aus der umgebenden Luft und gründliche Reinigung der Gefäße ist unbedingt erforderlich.

Meist sind die vorhandenen Ammoniakmengen so gering, daß eine maßanalytische Methode versagt oder mit zu großen Fehlern behaftet ist. Es empfiehlt sich dann die kolorimetrische Methode, welche noch außerordentlich kleine Ammoniakmengen zu bestimmen gestattet. Bei nicht gefärbten Wässern verfährt man folgendermaßen (nach *Frankland* und *Armstrong*): 150 *cm*³ Wasser werden mit 1 *cm*³ ammoniakfreier Natronlauge und 2 *cm*³ Natriumkarbonat versetzt, wodurch Erdalkalien, eventuell Eisen ausgeschieden werden. Man läßt klar absitzen und gießt (nicht filtrieren) 100 *cm*³ in eines der bei salpetriger Säure beschriebenen Gläser oder in einen *Hehner*schen Zylinder. Gleichzeitig stellt man sich Vergleichsflüssigkeiten von bestimmtem Ammoniakgehalt (z. B. $^1/_{10}$, $^1/_5$, $^1/_2$, 1, 2 *cm*³ einer Salmiaklösung, wovon jeder Kubikzentimeter 0·05 *mg* Ammoniak enthält, siehe Reagenzien), ebenfalls auf 100 *cm*³ verdünnt, her. Jedem der Zylinder fügt man sodann 1 *cm*³ *Nessler*sches Reagens zu. Es darf nur eine gelbe Färbung, keinesfalls ein Niederschlag entstehen, in welchem Falle das Wasser zu verdünnen ist. Durch Vergleich mit den Probezylindern resp. nach Ablassen des *Hehner*schen Zylinders ermittelt man die vorhandene Ammoniakmenge,

Das *Nessler*sche Reagens ist eine alkalische Lösung von Quecksilberjodidkaliumjodid, welche mit freiem Ammoniak eine Färbung resp. einen Niederschlag von Quecksilberoxyammoniumjodid $NHg_2J + H_2O$ resp. NH_2Hg_2OJ erzeugt. Sehr verdünnte Ammoniaklösungen werden nur gefärbt, die Farbe ist gelb und die Reaktion ist so empfindlich, daß selbst Spuren von Ammoniak dadurch angezeigt werden; bei gutem Verschließen der Probezylinder bleibt die Färbung längere Zeit bestehen. Bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff fügt man dem Wasser vor dem Versetzen mit Alkali etwas Zinksulfat zu. Statt der Vergleichsflüssigkeiten hat man auch Vergleichsskalen mittelst gefärbter Papiere oder gefärbter Gläser hergestellt. Ein solcher, sehr bequemer Apparat ist z. B. von *König* angegeben worden (*Königs* Kolorimeter). Bei gefärbten oder Abwässern, welche noch viel stickstoffhaltige organische Substanzen enthalten, ist diese direkte Methode nicht anwendbar. Einerseits stört die Farbe, andererseits verhindern die genannten Verunreinigungen das Eintreten der Reaktion.[1] Hier ist eine vorangehende Destillation mittelst Magnesiumoxyd oder reinem Bleioxyd erforderlich. Ein Erhitzen mit Natronlauge oder Soda ist nicht zu empfehlen, da dieselben aus vorhandenen stickstoffhaltigen organischen Substanzen Ammoniak zu entwickeln vermögen. Das Destillat füllt man auf das ursprüngliche oder ein anderes bestimmtes Volum auf und bestimmt darin das Ammoniak mittelst *Nessler*schen Reagenses.

Beispiel: 100 cm^3 Abwasser wurden mit Magnesiumoxyd auf $^1/_3$ abdestilliert. Das Destillat wurde auf 500 cm^3 aufgefüllt. Davon kamen 100 cm^3 in einen *Hehner*schen Zylinder und wurden mit 1 cm^3 *Nessler*schem Reagens versetzt. Im zweiten Zylinder wurden 2 cm^3 der Probesalmiaklösung auf 100 cm^3 verdünnt und ebenfalls mit *Nessler* versetzt. Um gleiche Farbenintensität zu haben, mußten vom zweiten Zylinder 20 cm^3 abgelassen werden. Es blieben also 80 cm^3. Diese 80 cm^3 entsprechen

$$\frac{2 \cdot 0{\cdot}05 \cdot 80}{100} = 0{\cdot}08 \; mg \; NH_3$$

Dieselbe Menge ist demnach auch in den 100 cm^3 des untersuchten Wassers enthalten. Dasselbe war aber von 100 auf 500 verdünnt worden, der wirkliche Gehalt ist also 0·08 . 5 = 0·40 *mg* pro 100 cm^3 oder 4 *mg* im Liter.

Bestimmung des organischen Stickstoffs.

Die Ermittelung des organischen Stickstoffs wird fast ausschließlich in Abwässern vorgenommen, hier gehört aber seine Bestimmung zu den regelmäßigen Operationen. Sie beruht auf der Oxydation der organischen Substanzen durch konzentrierte Schwefelsäure in der Hitze, wobei der gesamte Stickstoff in Ammoniak übergeht, welches durch Destillation mit Alkali ausgetrieben und auf eine der bei Ammoniak angegebenen Methoden, gewöhnlich maßanalytisch, bestimmt wird.

[1]) Cf. *Emmerling*, Ber. d. chem. Ges. Bd. 35. S. 2291. 1902.

1. Methode von Kjeldahl.

200 *cm*³ Wasser oder mehr werden im *Kjeldahl*schen Kolben von Jenaer Glas mit einer Federmesserspitze groben Bimssteinpulvers, 5 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure (spez. Gew. 1·84) und einem Kriställchen Kupfersulfat versetzt und abgedampft, dann solange erhitzt, bis Dämpfe von Schwefelsäure entweichen. In der Regel ist dann der Kolbeninhalt farblos oder schwach grünlich gefärbt. Man entfernt nun die Flamme und gibt vorsichtig einige Kristalle Kaliumpermanganat zu, wodurch die letzten Reste der organischen Substanz zerstört werden. Man läßt vollständig erkalten, verdünnt mit Wasser, setzt etwas Zink in Stückchen und Natronlauge im Überschuß zu, verbindet sofort mit dem Kühler und destilliert das Ammoniak ab, welches in titrierter Säure aufgefangen wird. Von dem Resultat ist das von vornherein im Wasser enthaltene Ammoniak abzuziehen.

Bisweilen wird der organische Stickstoff auch in der Form des sogenannten Albuminoidammoniaks bestimmt. Zu diesem Zwecke destilliert man zunächst eine bestimmte Menge des Wassers mit Magnesia und erhält so das vorhandene Ammoniak; nach dem Erkalten des Kolbeninhaltes setzt man 100 *cm*³ einer Flüssigkeit zu, welche im Liter 50 *g* Kaliumpermanganat und 500 *cm*³ 30%ige Natronlauge enthält, und destilliert wieder etwa 100 *cm*³ ab. Im Destillat wird das aus den stickstoffhaltigen organischen Substanzen entstandene Ammoniak ermittelt. Die Methode kann nur Anhaltspunkte bei vergleichenden Untersuchungen bieten, ist aber ungenau.

Bestimmung des Gesamtstickstoffs.

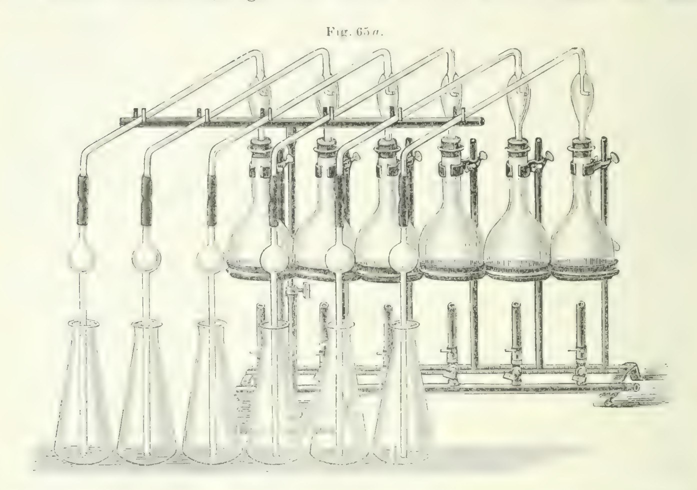
Nach *Kjeldahl-Jodlbauer* (organischer, Ammoniakstickstoff, Stickstoff der Salpeter- und salpetrigen Säure).

Will man außer dem organischen und dem Ammoniakstickstoff auch den als Salpetersäure und salpetrige Säure vorhandenen mit bestimmen, so dampft man 250 *cm*³ Wasser (Abwasser) nach Zusatz von 25 *cm*³ Phenolschwefelsäure (siehe Reagenzien) und einer kleinen Menge Bimsstein in einem Kolben von widerstandsfähigem Glase von ca. 750 *cm*³ Inhalt ein, bis der Kolbeninhalt klar und hell geworden ist. Nach dem Abkühlen fügt man etwa 0·1 *g* Kupferoxyd und 3 *g* Zinkstaub zu und kocht abermals bis zur hellgrünen Farbe. Die vorhandene Salpeter- und salpetrige Säure haben das Phenol in Nitrophenol übergeführt, durch den Zinkstaub ist letzteres in Aminophenol verwandelt. Die konzentrierte Schwefelsäure zersetzt dasselbe unter Bildung von Ammoniumsulfat. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit Wasser, setzt Natronlauge zu und verfährt wie im vorigen Abschnitt angegeben. Sind Stickstoffbestimmungen in Wässern oft auszuführen, so bedient man sich zweckmäßig solcher Vorrichtungen, welche das Arbeiten mit mehreren Proben zugleich ermöglichen (siehe Fig. 65 *a* und *b*). Alle Bestimmungen der Stickstoffverbindungen sind entweder unmittelbar oder möglichst kurze Zeit nach der Probenahme vorzunehmen.

Bestimmung der organischen Substanz.

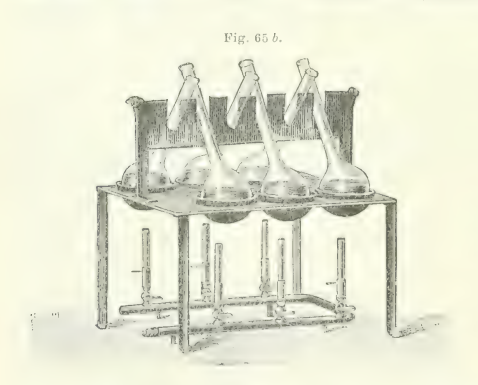
Die im Wasser gelösten organischen Substanzen stammen von der Zersetzung und dem Abbau komplizierter Körper im Wasser selbst her, oder stellen Verunreinigungen von außen vor; sie können daher der aller-

Fig. 65 *a*.



verschiedensten Natur sein, deren Bestimmung im einzelnen unmöglich erscheint, besonders, da die Menge der organischen Substanz außer in Abwässern in der Regel nur eine sehr geringe ist. Würden nicht Veränderungen und Umsetzungen auch anorganischer Körper damit verbunden sein, so könnte die Bestimmung des Glühverlustes einen richtigen Maßstab für die organische Substanz bilden. Da dies jedoch nicht der Fall ist, so hat man sich bemüht, nach anderen Methoden die Gesamtmenge der organischen Substanz zu ermitteln. Einen gewissen Wertmesser dafür ergibt die Bestimmung des in organischer Form vorhandenen Kohlenstoffs, obschon man auch daraus nicht auf die wirklich vorhandene Menge der organischen Ver-

Fig. 65 *b*.



bindungen schließen kann. Anstatt die letzteren selbst zu bestimmen, kann man auch die Menge Sauerstoff oder sauerstoffabgebender Verbindungen ermitteln, welche zur Oxydation der organischen Substanzen erforderlich sind.

A. Bestimmung des organischen Kohlenstoffs.[1])

Man wendet bei Abwässern und getrübten Wässern filtriertes Wasser an. 250 *cm*³ Wasser werden in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben mit 10 *cm*³ verdünnter Schwefelsäure versetzt und eine halbe Stunde zum Austreiben aller Kohlensäure gekocht.

Nach dem Erkalten fügt man 2—3 *g* Kaliumpermanganat und 10 *cm*³ einer 20prozentigen Merkurisulfatlösung zu, setzt den Kühler wieder auf und verbindet mit einem Apparat, welcher gestattet, die später gebildete Kohlensäure zu absorbieren. Dieser Apparat besteht aus einer *Peligot*schen Röhre mit konzentrierter Schwefelsäure, einer Röhre mit Chlorkalzium und einer mit Natronkalk, am Ende einer zur Hälfte mit Natronkalk und zur anderen mit Chlorkalzium gefüllten Rohre. Man erhitzt vorsichtig, so daß ein gleichmäßiger Gasstrom entsteht, später zum Sieden. Wenn keine Gasentwicklung mehr bemerkbar ist, öffnet man den Hahn des mit dem Natronkalkrohr verbundenen Scheidetrichters und saugt mit Hilfe eines Aspirators $^1/_4$ Stunde lang einen langsamen Gasstrom durch das System. Die Absorptionsröhren sind gewogen, ihre Gewichtszunahme entspricht der aus der organischen Substanz entwickelten Kohlensäure.

B. Bestimmung der Oxydierbarkeit resp. des Verbrauchs von Permanganat.

Erforderlich: $\frac{n}{100}$-Kaliumpermanganatlösung (1 *cm*³ = 0·000316 $KMnO_4$)

$\frac{n}{100}$ mit der Permanganatlösung übereinstimmende Oxalsäurelösung.

100 *cm*³ des eventuell filtrierten Wassers, bei Abwässern 10 *cm*³ oder weniger auf 100 *cm*³ mit destilliertem Wasser verdünnt, werden in absolut reinem Kolben oder Becherglas mit 5 *cm*³ verdünnter Schwefelsäure und aus einer Bürette mit 10 *cm*³ $\frac{n}{100}$-Kaliumpermanganat versetzt und 10 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt. Sollte dabei die rote Farbe verschwinden, so wiederholt man den Versuch unter Anwendung von weniger Wasser, welches aber immer auf 100 *cm*³ zu verdünnen ist. Sodann läßt man aus einer zweiten Bürette 10 *cm*³ $\frac{n}{100}$ Oxalsäure zulaufen, wodurch Entfärbung eintritt. Man titriert dann wieder mit Permanganat bis zur Rosafärbung. Die Menge der zuletzt gebrauchten Permanganatlösung, mit 0·316 multipliziert, ergibt die zur Oxydation der organischen Substanz in 100 *cm*³ Wasser erforderlich gewesene Menge $KMnO_4$ in Milligrammen.

[1]) Nach *König*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm., S 193 (1901).

Beispiel: 10 cm^3 Wasser wurden auf 100 cm^3 verdünnt. Verbraucht wurden, nachdem zuerst 10 cm^3 Permanganat und dann 10 cm^3 Oxalsäure zugesetzt waren, zuletzt noch 6·8 cm^3 Permanganat. Im ganzen waren also zugesetzt 10 + 6·8 = 16·8 cm^3 Permanganat und 10 cm^3 Oxalsäure. Da aber diese Oxalsäurelösung 10 cm^3 Permanganat verbraucht haben, bleiben für die Oxydation 6·8 cm^3 Permanganat.

6·8 . 0·316 = 2·14 *mg* $KMnO_4$ pro 100 cm^3 Wasser, pro Liter also 21·4 *mg*; und da das Wasser im Verhältnis von 10 : 100 verdünnt war, 214 *mg* $KMnO_4$. Sollten Oxalsäure und Permanganat nicht genau einander gleichwertig sein, so braucht man nur den absoluten Gehalt der einen Lösung und ihr Verhältnis zu der anderen zu kennen, um leicht entsprechende Berechnungen vornehmen zu können.

Bisweilen wird die Bestimmung der Oxydierbarkeit in alkalischem Medium vorgenommen (nach *Schulze*). 5 oder 10 cm^3 des filtrierten Abwassers werden mit Wasser auf 100 gebracht, mit 0·5 cm^3 Natronlauge (1 : 1), einer Spur von Bimssteinsand und 15 cm^3 $^1/_{100}$ Permanganat versetzt. Nach 10 Minuten langem Kochen setzt man 10 cm^3 verdünnte Schwefelsäure und 15 cm^3 $\frac{n}{100}$ Oxalsäure zu und titriert mit $\frac{n}{100}$ Permanganat wie üblich zu Ende.

Eng mit Qualität und Quantität der gelösten organischen Stoffe steht die Fähigkeit eines Abwassers in Zusammenhang, in schnellerer oder kürzerer Zeit Fäulniserscheinungen zu zeigen. Bei Abwässern, besonders bei nach bestimmten Methoden gereinigten Abwässern, ist diese Erscheinung außerordentlich wichtig, weil sie einen Maßstab für den Grad der Reinigung abgibt. Ebenso ergeben sich Beziehungen zwischen der Menge der organischen Substanzen und der oben bereits erwähnten Sauerstoffzehrung.

Die Fäulnisfähigkeit wird in der Regel so bestimmt, daß man ermittelt, in welcher Zeit Methylenblau durch den bei der Fäulnis auftretenden Schwefelwasserstoff reduziert, d. h. entfärbt wird. Nach *Spitta* und *Weldert*[1]) gibt man in ein 50 cm^3 haltendes Fläschchen mit Glasstopfen 0·3 cm^3 einer 0·05%igen wässerigen Methylenblaulösung, füllt bis zum Rande mit dem zu untersuchenden Wasser, verschließt mit dem sehr gut schließenden Stopfen, den man eventuell festbindet, und stellt in den Brutschrank bei 37°. Sind fäulnisfähige Stoffe vorhanden, so ist nach 6 Stunden in der Regel Entfärbung eingetreten. Arbeitet man mit absteigenden Methylenblaumengen in mehreren Flaschen, so läßt sich auch ein Maßstab für den Grad der Fäulnisfähigkeit gewinnen. *Weldert* und *Röhlich*[2]) heben die Proben bei 37° auf und bestimmen den entstandenen Schwefelwasserstoff mittelst der *Caro*schen Reaktion mit Dimethylparaphenylendiamin.

[1]) *Spitta* und *Weldert*, Mitt. aus d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung, 6. Heft, S. 160 (1906).

[2]) *Weldert* und *Röhlich*, Mitt. aus d. Kgl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung, 10. Heft, S. 26 (1908).

Nachweis gewisser Verunreinigungen im Wasser und Bestimmung charakteristischer Substanzen in Abwässern.

Für den Nachweis von Verunreinigungen spezifischer Natur in Wässern und von gewissen für einzelne Industrien charakteristischen Bestandteilen in Abwässern können allgemeine Regeln nicht angegeben werden. Die Überlegung wird in jedem Falle ergeben, worauf sich in bestimmten Fällen die Untersuchung zu erstrecken hat, und ob es mit den bekannten Methoden gelingt, solche Verunreinigungen nachzuweisen. Wo es sich um solche organischer Natur handelt, wird öfters die biologische oder mikroskopische Prüfung eher zum Ziele führen als die chemische. Nur kurz seien im nachfolgenden einige Stoffe angegeben, auf welche sich in Abwässern gewisser Industrien die Untersuchung eventuell zu erstrecken hat, ohne daß damit die Frage erschöpft werden kann. In vielen Fällen wird die Untersuchung der sich in Abwässern absetzenden Schlämme zu Hilfe genommen werden müssen.

Abwässer aus Gasfabriken. Charakteristika: der Teer- resp. Gasgeruch, Ammoniak, Phenol eventuell Cyanverbindungen.

Stärkefabriken. Die starke Fäulnisfähigkeit, Stärke, Pflanzenfasern.

Brauereiabwässer. Das Schäumen, ein Geruch nach Bier, Stärke, Reste von Samenhülsen, Hopfenreste, Hefe.

Abwässer aus Zuckerfabriken. Schnelle Fäulnis, rasches Eintreten von milchsaurer und buttersaurer Gärung, Pflanzenreste.

Zellulosefabriken. Sulfite, Zellulosefasern.

Gerbereien. Stinkende Fäulnis, Haare, Arsen, Chrom.

Wollwäschereien und Tuchfabriken. Wollfasern, Fett, Seifen, Zinn.

Färbereien. Beizen, Farbstoffe, Metalle eventuell im Schlamm.

Holzessigfabriken. Teerbestandteile.

Papierfabriken. Zellulose, Chlorkalk, Leim, Ultramarin.

Schlächtereien. Fett, Fleischfasern.

2. Die mikroskopische und biologische Untersuchung.

Die mikroskopische Untersuchung des Wassers bezweckt den Nachweis ungelöster, mit dem Auge direkt oder bei schwächeren oder stärkeren Vergrößerungen wahrnehmbarer Bestandteile. Dieselben können anorganischer oder organischer Natur sein. Die Prüfung auf organisierte Wesen ist die Aufgabe der speziellen biologischen Methoden. Größere ungelöste Partikeln kann man bereits mit schwachen Vergrößerungen, Lupen u. dgl. erkennen, indem man das Wasser direkt untersucht, feinere lassen sich bei stärkerer Vergrößerung direkt oder im Bodensatz der Wasser, oder nach vorangegangener Isolierung nachweisen. Es wird keine Schwierigkeiten bieten, in einem solchen Bodensatz z. B. Haare, Insektenschalen, Wolle oder Baumwollfäden, Zellulosefasern, Pflanzengefäße, Stärkekörner und ähnliches, wie sie auch im Trinkwasser aus nicht gehörig verschlossenen Brunnen, besonders aber in Abwässern vorkommen, zu erkennen.

Die biologische Untersuchung befaßt sich mit dem Nachweis organisierter höherer oder niederer Lebewesen überhaupt, oder bestimmter Arten eventuell auch mit der Bestimmung ihrer Zahl. Dabei wird besonders Rücksicht zu nehmen sein auf solche Organismen, aus deren Vorkommen man gewisse Rückschlüsse auf die übrigen, auch die chemischen Qualitäten des Wassers machen kann. Es versteht sich von selbst, daß nicht das gelegentliche Auffinden irgend eines derartigen Lebewesens unter allen Umständen eine Beweiskraft besitzt, vielmehr kann gerade hier erst die öftere und vergleichende Untersuchung unter Berücksichtigung aller einschlägigen Verhältnisse, besonders auch die quantitative Bestimmung ein richtiges Bild und einen Anhalt für die Beurteilung ergeben. Bei solchen Untersuchungen wird sich fast stets herausstellen, daß die Resultate der biologischen mit denen der chemischen Prüfung Hand in Hand gehen, ein Beweis, daß die Bedingungen, unter denen bestimmte Organismen im Wasser leben und sich vermehren können, von den chemischen Eigenschaften des Wassers abhängig sind. Dies berücksichtigend hat die biologische Methode sich so entwickelt, daß sich vielfach mit ihrer Hilfe weit rascher als mittelst der chemischen die nötigen Faktoren für die Kritik ergeben. In vielen Fällen bildet die biologische Untersuchung auch eine wichtige Ergänzung der chemischen. Dies trifft vor allem bei der Frage der organischen Substanzen im Wasser zu, deren Qualität die chemische Methode nur sehr unvollkommen feststellen kann, deren Natur aber durch die biologische Prüfung, wenn auch nicht ganz gelöst, so doch in mancher Beziehung in helleres Licht gesetzt wird. So sprechen alle bisherigen Untersuchungen dafür, daß mit Vorliebe gewisse Organismen dann auftreten, wenn das Medium, in dem sie leben, ganz bestimmte chemische Verbindungen enthält, daß sie mehr und mehr verschwinden in dem Grade, in dem jene Verbindungen abnehmen und verschwinden, um wieder anderen Platz zu machen, welche andere Lebensbedingungen resp. andere Nährstoffe verlangen. Man kann somit aus dem Vorhandensein bestimmter Organismen entweder allein oder in Symbiose mit anderen Rückschlüsse auf die chemische Beschaffenheit des Wassers machen. Dazu kommt, daß die Lebewesen nicht so rasch verschwinden und sich durch andere ersetzen lassen können, wie unter Umständen die chemische Qualität wechselt, daß sie vielmehr eine Zeitlang, namentlich wenn es sich um festsitzende Organismen handelt, noch nachweisbar sind, wenn in chemischer Beziehung das Wasser längst einen anderen Charakter angenommen hat: eine wichtige Tatsache für den Nachweis von Verunreinigungen vorübergehender Natur.

Besondere Bedeutung hat die biologische Methode in den letzten Jahren für das Studium jener Vorgänge in Gewässern gewonnen, welche bedingt sind durch die Zersetzung und den allmählichen Abbau komplizierter organischer Verbindungen, wobei nicht nur chemische und physikalische, sondern in hohem Grade biochemische Prozesse eine Rolle spielen und welche man die Selbstreinigung der Gewässer nennt. Hier wird das orga-

nische Material mehr und mehr dem Mineralisationsprozesse unterworfen, bedingt durch den Lebensprozeß bestimmter Organismen von den Bakterien an hinauf bis zu den hochdifferenzierten Pflanzen und Tieren. Gerade hier ist Gelegenheit, die Abhängigkeit der Flora und Fauna von der Art und dem Grade der chemischen Verunreinigungen zu studieren.

Von allen organischen Verunreinigungen sind die stickstoffhaltigen Eiweißstoffe diejenigen, welche durch ihre mannigfachen Zersetzungen den Charakter der Gewässer am meisten und schlimmsten beeinflussen. Da sie zugleich die wichtigsten Nährstoffe für die Lebewelt der Gewässer vorstellen, so ist klar, daß die Art der Organismen darin ganz besonders von der Art und der Menge jener stickstoffhaltigen Substanzen abhängig ist, und daß das mikroskopische Bild mit dem fortschreitenden Abbau jener wechselt. Es war deshalb berechtigt, daß man für die Selbstreinigung gewisse Abschnitte konstruierte und das Wasser in Zonen einteilte, welche man polysaprobe, metasaprobe und oligosaprobe nannte. Erstere zeichnet sich infolge ihres Gehalts an Eiweißstoffen und deren ersten Abbauprodukten durch ihren fäulnisfähigen Charakter aus, begleitet von geringem Sauerstoffgehalt, Schwefelwasserstoffbildung, Gärungsprozessen verschiedener Art. In der zweiten Zone ist die Zertrümmerung des stickstoffhaltigen Materials schon weiter bis etwa zu den Aminosäuren resp. Polypeptiden gediehen, die letzte endlich ist durch Oxydationsprozesse so gereinigt, daß nur noch Kohlensäure und Ammoniakverbindungen übrig geblieben sind. Es ist klar, daß sich absolut streng diese Einteilung nicht aufrecht erhalten läßt, sondern daß in der Natur mit zahlreichen Übergängen zu rechnen ist. Trotzdem lassen sich die bei der Untersuchung der Selbstreinigung gewonnenen Resultate mit bestimmten Einschränkungen auf die Eigenschaften der verschiedenen Wässer übertragen, so daß die biologische Untersuchung auch hier zu einem höchst wertvollen Faktor für die Beurteilung von Wässern der verschiedensten Provenienz geworden ist.

Vielfach wird von der biologischen Untersuchung der Nachweis von Bakterien getrennt, obschon beide ja eigentlich dasselbe Gebiet umfassen. Da jedoch die Untersuchungsmethoden sich nicht unerheblich unterscheiden, so mag auch an dieser Stelle die spezielle bakteriologische Prüfung getrennt besprochen werden.

Beim Nachweis von Bakterien im Wasser handelt es sich um die Prüfung auf Bakterien überhaupt, um die Bestimmung ihrer Anzahl und um die Untersuchung auf bestimmte Arten, namentlich pathogener. Es leuchtet ein, daß letztere die wichtigste Frage bildet.

Die bakteriologische Untersuchung.

Die allgemeinen Methoden, sowie die Kenntnis der wichtigsten Bakterienarten in morphologischer und biologischer Beziehung müssen als bekannt vorausgesetzt werden. Es sei hier auf die zahlreichen Lehr- und

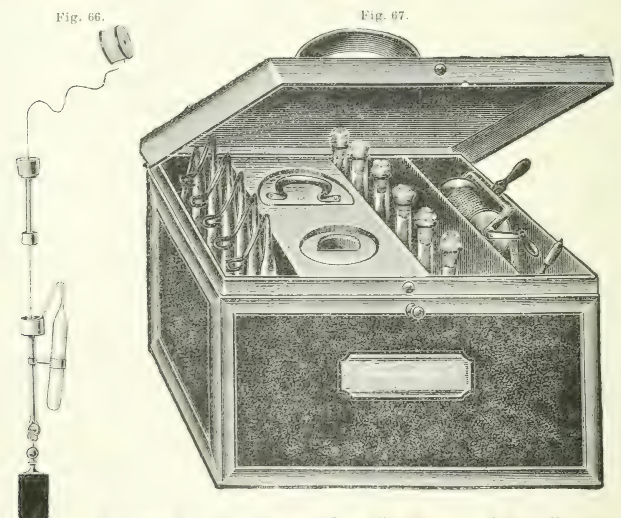
Handbücher der Bakteriologie und der bakteriologischen Methoden verwiesen. z. B. *Migula*. Die Bakterien: *Günther*, Bakteriologie usw. Die wichtigsten im Wasser vorkommenden Bakterien findet man auch bei *A. Lustig*: Diagnostik der Bakterien des Wassers. Jena und Turin 1893 beschrieben.

Das erste Erfordernis für die bakteriologische Untersuchung sind gute Mikroskope, wie sie von mehreren optischen Firmen in tadelloser Qualität geliefert werden. In Betracht kommen Vergrößerungen ca. 60fach, 400- und 1000fache. Man benötigt ferner planer Objektträger, zum Teil mit Ausschliff. Deckgläser, Doppelschalen nach *Petri*, Platindrähte in einen Glasstab eingeschmolzen, verschiedene Nährböden, Farbstoffe etc. Die einzelnen Gegenstände werden an Ort und Stelle beschrieben werden.

Die Probenahme für die bakteriologische Untersuchung.

Um einwandfreie Proben für die bakteriologische Untersuchung zu entnehmen, hat man sich absolut reiner, steriler Gefäße zu bedienen.

Fig. 66. Fig. 67.



Zwecks Sterilisation werden alle Glas- und Metallgeräte 1 bis $1^1/_2$ Stunden im Trockenschrank auf 160° erhitzt. Handelt es sich um kleine Proben, wie sie meist genügen, so wendet man zweckmäßig evakuierte, an einer Seite zu einer gebogenen Spitze ausgezogene und zugeschmolzene Reagensgläser an, welche unter Wasser geöffnet werden und sich dabei füllen. Nach dem Herausziehen werden die Spitzen wieder zugeschmolzen; Infektion ist hierbei ausgeschlossen. Mittelst besonderer Vor-

richtungen gelingt es, in bestimmten Tiefen die Spitzen durch ein mechanisch auslösbares Gewicht abzuschlagen. Ein derartiger Apparat ist der von *Sclavo-Czaplewski* beschriebene (Fig. 66). Oder an den für die chemische Probenahme konstruierten Apparaten befindet sich gleichzeitig ein entsprechender für die bakteriologische. Die Untersuchung hat möglichst schnell nach der Probenahme zu geschehen, da sonst leicht Veränderungen in der Bakterienzahl vor sich gehen. Jedenfalls hat man das Anfertigen der Zählplatten, von denen später die Rede sein wird, sofort in Angriff zu nehmen. Ein Transport solcher Platten muß eventuell auf Eis geschehen. Eine bequeme kompendiöse Einrichtung zum Aufnehmen und zum Transport stellt Fig. 67 vor.

In reinen Wässern wird man nicht immer durch die direkte mikroskopische Prüfung Bakterien nachweisen können, anders bei stark verunreinigten oder in Bodensätzen.

Direkte Beobachtung im hängenden Tropfen.

Auf ein absolut sauberes, aber nicht durch Erhitzen von seiner feinen Fettschicht befreites Deckgläschen bringt man mittelst Platinöse oder Pipette einen Tropfen des Wassers oder eine Spur des in einem Tröpfchen reinen Wassers verteilten Bodensatzes, umzieht den Ausschliff eines Objektträgers schwach mit Vaseline und bringt diesen Ausschnitt so über das Deckglas, daß der Tropfen beim Umkehren des Objektträgers frei in der Höhlung hängt, ohne das Glas desselben zu berühren. Man stellt unter dem Mikroskop mittelst schwächerer Vergrößerung auf den Rand des Tropfens ein und wendet sodann die Ölimmersion an, nachdem man den Hohlspiegel des Mikroskops mit dem Planspiegel vertauscht hat. Man mustert den ganzen Tropfen, besonders den Rand, an welchem sich nach einiger Zeit in der Regel die Bakterien ansammeln, durch. Dabei ist auf bestimmte Formen: Kokken, Bacillen, Spirillen, Eigenbewegung, Sporen usw. Rücksicht zu nehmen.

Beobachtung im gefärbten Präparat.

Ein absolut sauberes, durch vorsichtiges Erhitzen von Fett befreites sterilisiertes Deckglas wird mittelst *Cornet*scher Pinzette festgehalten (Fig. 68). Man bringt sodann einen Tropfen des zu untersuchenden Wassers darauf, welches sich beim Ausstreichen mittelst ausgeglühten Platindrahtes gleichmäßig verteilen muß, wonach man an einem staubfreien Orte, zweckmäßig in einem Exsikkator, das Wasser verdunsten läßt. Man zieht das Glas dreimal durch die nicht leuchtende Flamme zum Fixieren und läßt so viel Farbstoff darauf fließen, daß die obere Fläche vollständig bedeckt ist. Nach einigen Minuten, bisweilen nach längerer Zeit, spült man mit Wasser ab, läßt wieder trocknen und bettet das Präparat auf einem Objektträger in Kanadabalsam. Die Untersuchung geschieht mittelst Ölimmersion bei voller Blende und mit *Abbe*schem Kondensor. Statt auf dem

Deckglas kann man die Färbung auch auf dem Objektträger vornehmen. Als Farbstoffe dienen Methylenblau, bei Reinkulturen auch Fuchsinlösungen. Die Standlösungen werden soweit mit Wasser verdünnt, bis sie in einem gewöhnlichen Reagensglase durchsichtig werden (siehe Reagenzien). Gelingt es so, die Anwesenheit von Bakterien zu erkennen, auch eventuell gewisse Formen zu unterscheiden, so bietet die direkte Beobachtung jedoch nicht die Möglichkeit, genauere Unterscheidungen zu machen oder die Quantität der Bakterien festzustellen. Letzteres geschieht durch Festhalten der einzelnen Bakterien an einer Stelle und Auswachsenlassen zu Kolonien, erstere durch weitere Untersuchung dieser letzteren. Zwar entspricht die Anzahl der Kolonien auch durchaus nicht absolut der Anzahl der Keime, weil unter den gewöhnlichen Versuchsbedingungen nur ein Teil derselben während der Beobachtungszeit, andere gar nicht zum Wachsen kommen, aber die Plattenzählung gibt doch vergleichbare Werte und ist besonders wichtig, wenn es sich um fortlaufende systematische Untersuchungen desselben Wassers oder wenn es sich um Isolierung bestimmter Bakterienarten handelt. In letzterem Falle wird man den Nährboden der Natur der betreffenden Bakterienart anpassen.

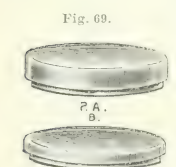
Fig. 68.



Isolierung und Zählung der vorhandenen Keime.

Der Inhalt von drei Nährgelatineröhrchen wird durch Einstellen in 40° warmes Wasser verflüssigt und unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln mittelst steriler Pipette mit 0·1; 0·5; 1 cm^3 Wasser je nach der Qualität des Wassers geimpft. Bei Abwässern ist jedenfalls vorher Verdünnung mit sterilem Wasser vorzunehmen. Nach Mischen des Wassers mit der Gelatine ohne Blasenbildung gießt man den Inhalt der Reagensgläser in je eine sterile Petrischale (Fig. 69), verteilt gleichmäßig auf dem Boden und läßt nach Aufsetzen des Deckels auf horizontaler Unterlage erstarren. Die Schalen bleiben bei einer Temperatur von 18—22° ruhig an einem staubfreien, vor Licht geschützten Orte stehen. Agarplatten, welche ebenso hergestellt sind, hebt man, um die lästige Wirkung des Kondenswassers auszuschließen, zweckmäßig mit dem Deckel nach unten auf. Nach 48 Stunden schreitet man zur ersten Zählung der gewachsenen Kolonien, welche mittelst Lupe oder Mikroskop ausgeführt wird.

Fig. 69.



Zählapparat nach Wolffshügel.

Dieser Apparat (Fig. 70) besteht aus einer in Holzfassung befestigten schwarzen matten Glasscheibe, über welcher auf vier Holzfüßchen eine

Glasplatte ruht, welche durch eingeätzte Linien in Quadratzentimeter geteilt ist. Die 4 mittelsten und die nach den Ecken laufenden Quadrate sind weiter in 9 kleine Felder eingeteilt. Die zu untersuchende Petrischale wird nach Entfernung des Deckels unter die Zähltafel gebracht. Beträgt der Durchmesser der Schale 9 *cm*, so liegen die vier inneren Quadrate und an den Ecken noch 2 untergeteilte Quadrate innerhalb des Schalenrandes. Diese betragen zusammen 12 cm^2, und es genügt in gewissen

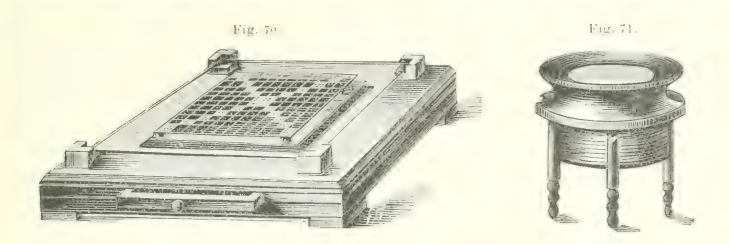


Fig. 70. Fig. 71.

Fällen, die innerhalb desselben liegenden Kolonien mit der Lupe zu zählen (Fig. 71). Der Flächeninhalt einer Petrischale von 9 *cm* Durchmesser beträgt 36·6 cm^2. Die in den 12 Quadraten gezählten Kolonien sind daher mit $\frac{63 \cdot 6}{12} = 5 \cdot 3$ zu multiplizieren, um die Anzahl der auf der ganzen Schale verteilten Kolonien zu erhalten. Man berechnet von der angewandten Menge Wasser auf 1 cm^3.

Statt mit der Lupe kann man auch mit dem Mikroskop zählen.

Mikroskopische Zählung der Kolonien.[1])

Diese Art der Zählung ist nur möglich bei verhältnismäßig dicht besäten Platten. Handelt es sich um relativ bakterienarme Wässer, so kann man ausnahmsweise größere Mengen als 1 cm^3 verimpfen. Doch vermeidet man ein solches Vorgehen möglichst. Die Zählung wird zuverlässig erst dann, wenn etwa mindestens 1500 Kolonien sich auf der Platte befinden, doch kann man auch nötigenfalls Platten mit einer Koloniezahl bis 500 abwärts mikroskopisch zählen. Vorbedingung für zuverlässige Resultate sind: sehr gleichmäßige Durchmischung von Wasser und verflüssigter Gelatine vor dem Gießen der Platte und Erstarren der Gelatine in einer völlig horizontal eingestellten Schale, d. h. in möglichst gleichmäßiger Schichtdicke. Zur Vornahme der Zählung eignen sich nur solche Mikroskope, bei welchen man jede Stelle einer 9 *cm* im Durchmesser haltenden Petrischale bequem unter das Objektiv bringen kann, d. h. entweder Mi-

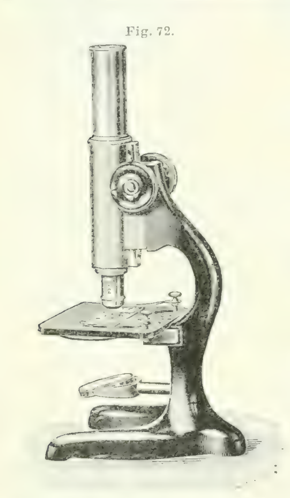
[1]) Beschreibung wörtlich nach *Spitta* und *Ohlmüller*, Untersuchung und Beurteilung des Wassers und Abwassers. Dritte Auflage, S. 267 (1910).

kroskope mit sehr großem Objekttisch oder mit nach hinten ausgebogenem Stativ. Die Firma E. Leitz-Wetzlar führt ein Stativ Nr. VI (Fig. 72), welches sich für diese Zwecke gut eignet und sehr billig ist. Auch das Stativ 8 von W. u. H. Seibert in Wetzlar ist für diesen Zweck brauchbar oder das Stativ IX von Karl Zeiss in Jena.

Man benötigt eine etwa 60- bis 100fache Vergrößerung, d. h. ein schwaches achromatisches Objektiv kombiniert mit einem schwachen und einem stärkeren Okular.

Für sehr dicht besäte Platten wird das stärkere Okular benutzt, und zwar nachdem man auf die Blende desselben ein in 25 kleine Quadrate geteiltes Okularnetzmikrometer gelegt hat. Zum Ausmessen der Größe des mikroskopischen Gesichtsfeldes ist schließlich noch ein Objektmikrometer notwendig von der Art, daß auf ihm ein Zentimeter in Millimeter und davon ein Millimeter in Zehntelmillimeter geteilt ist.

Fig. 72.



Es empfiehlt sich, wie bei der Lupenzählung, stets nur Petrischalen mit einem lichten Durchmesser von 90 *mm* zu benutzen. Für diese Schalengröße und für die ausgemessene Gesichtsfeldgröße kann man sich zweckmäßig ein für allemal eine Tabelle herstellen, welche die Berechnung der Keimzahlen ungemein erleichtert. Nach *Neisser*[1]) genügt es bei Platten mit Koloniezahlen von 1500 und mehr 30 Gesichtsfelder auszuzählen. Man schiebt die Platte zunächst einmal von rechts nach links vorbei, am linken Rand der Schale beginnend und jedesmal die Schale um etwa $^3/_4$ *cm* nach links fortrückend, so daß man in einem Schalendurchmesser 10 Gesichtsfelder zählt. Dann dreht man die Schale um 60° und zählt 10 Gesichtsfelder von links nach rechts, dreht die Schale in der nämlichen Richtung nochmals um 60° und zählt die letzten 10 Gesichtsfelder von rechts nach links. Auf diese Weise hat man die Platte ziemlich gleichmäßig durchmustert und kann ein annähernd richtiges Zahlenergebnis bei der Ausrechnung erwarten. Das Auge ist jedesmal vor dem Verschieben der Platte vom Okular zu entfernen, um eine möglichst objektive Einstellung des Gesichtsfeldes zu ermöglichen.

Für Laboratorien, in denen sehr viel mikroskopische Plattenzählungen vorgenommen werden, kann man sich vorteilhaft eines Schlittenmikroskopes mit beweglichem Objekttisch (Leitz) bedienen. Auf dem Objekttisch wird

[1]) *Neisser*, Zeitschr. f. Hyg. Bd. **20**, S. 119 (1899).

ein drehbarer Einsatz für die Petrischale angebracht, dessen Kreis von 60° zu 60° eine Marke trägt. Das Mikroskop wird durch eine Kurbel seitlich einer Skala entlang über den Objekttisch hinweggeführt, so daß man in regelmäßigen Abständen voneinander die Gesichtsfelder in einem Durchmesser der Schale einstellen kann.

Berechnung.

Ist s die Anzahl der in 30 mikroskopischen Gesichtsfeldern gezählten Kolonien, $\frac{s}{30}$ also die Anzahl der auf ein Gesichtsfeld entfallenden Kolonien, x die Gesamtanzahl der auf der Platte befindlichen Kolonien, r der Radius der Platte (bei Petrischalen von 90 *mm* Durchmesser also 45 *mm*) und ρ der Radius des mikroskopischen Gesichtsfeldes, wie ihn die Messung mit dem Objektmikrometer ergeben hat, so verhält sich die Anzahl der Kolonien auf der Platte wie die Fläche des mikroskopischen Gesichtsfeldes zu der Fläche der Platte, also

$$\frac{s}{30} : x = \rho^2\pi : r^2\pi$$

$$x \cdot \rho^2\pi = \frac{s}{30} \cdot r^2\pi$$

$$x = \frac{s}{30} \cdot \frac{r^2}{\rho^2}$$

Der Ausdruck

$$\frac{r^2}{\rho^2 \cdot 30}$$

ist nun aber für dieselbe Plattengröße und bei Benutzung der gleichen optischen Systeme ein konstanter Wert, den man sich ausrechnet. Setzt man nun für s die Werte 1—10 ein, multipliziert damit den Wert $\frac{r^2}{\rho^2 \cdot 30}$ so erhält man x, d. h. die Gesamtzahl der auf der Platte vorhandenen Kolonien. Durch entsprechende Kommaverschiebung und Addition kann man auch für s-Werte, welche 10 übersteigen, die zugehörigen Zahlen leicht ermitteln.

In derselben Weise stellt man sich auch eine Tabelle für das Okularnetzmikrometer her, indem man sich mit Hilfe des Objektmikrometers die scheinbare Größe des Netzes (25 Quadrate) berechnet. Gezählt werden nur die innerhalb der 25 Quadrate im Gesichtsfelde liegenden Kolonien.

Die folgende Tabelle gilt für Platten von 90 *mm* und ist berechnet für ein Leitzsches Objektiv Nr. 3 kombiniert mit den Okularen 1 und 4. In der dritten Kolonne sind die Zahlen angegeben bei Benutzung des Okularnetzes.

Beispiel: Petrischale mit 0·2 *cm*³ Fußwasser hergestellt. Es sind mikroskopisch gezählt worden mit Okular 1 und Objektiv 3

im 1. Durchmesser	im 2. Durchmesser der Platte	im 3. Durchmesser
3	4	1
2	2	3
4	3	5
1	3	0
5	2	2
3	1	1
2	3	4
0	3	3
3	2	2
1	3	3
24	27	24

In 30 Gesichtsfeldern also 75 Kolonien.

Mithin waren auf der Platte nach der folgenden Tabelle vorhanden

2510
179
2689 Kolonien.

Berechnungstabelle für einen inneren Schalendurchmesser von 90 Millimeter.

Anzahl der in 30 Gesichtsfeldern gezählten Kolonien	Anzahl der Kolonien auf der ganzen Platte		
	Okular 1; Objektiv 3 2·74 mm	Okular 4; Objektiv 3 1·80 mm	Okular 4; Objektiv 3 Okularnetz. 25 Quadrate bedecken 0·7569 mm²
1	35·963	83·333	280·089
2	71·926	166·666	560·178
3	107·889	249·999	840·267
4	143·852	333·332	1120·356
5	179·815	416·665	1400·445
6	215·778	499·998	1680·534
7	251·041	583·331	1960·723
8	287·704	666·664	2240·712
9	323·667	749·997	2520·801
10	359·630	833·330	2800·890

Also würden aus 1 cm^3 des untersuchten Wassers sich entwickelt haben 13.445 Kolonien, rund 13.000.

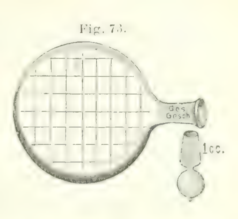
Für manche Zwecke, auch für den Transport, sind die Flaschen nach *Rozsahegyi* mit Quadratteilung auf einer Seite recht bequem. (Fig 73.)

Den Grad der Verunreinigung von Wasser durch Bakterien kann man auch so feststellen, daß man Röhrchen oder Kölbchen mit steriler Bouillon oder Peptonwasser mit absteigenden Mengen des Wassers versetzt und bei gewöhnlicher oder Bruttemperatur nach bestimmter Zeit feststellt, bis zu welcher Verdünnung noch eine Trübung der klaren Nährflüssigkeit hervorgerufen wird. Auf diesem Prinzip beruht der sogenannte Thermo-

philentiter nach *Petruschky*, welcher namentlich Bedeutung für die Bestimmung des Bacterium coli hat.

Die auf Nährgelatine auf den Platten entstandenen Kolonien, deren Zahl einen gewissen Maßstab für die Qualität des Wassers bildet, gehören meist unschuldigen Saprophyten an, wie sie in allen Wässern verbreitet sind. An dieser Stelle seien nur einige wenige Arten genannt und kurz beschrieben, welche bei Wasseruntersuchungen am häufigsten angetroffen werden. Einige andere, welche direkt als Infektionskeime anzusehen sind oder deren Gegenwart mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Verunreinigung mit menschlichen oder tierischen Abfallstoffen hinweisen, werden noch besonders behandelt werden.

Fig. 75.



In Wasser häufiger vorkommende nicht pathogene Bakterienarten.

Mikrococcus flavus liquefaciens *(Flügge)*. Ziemlich große Kokken, zumeist zu 2 oder 3 oder in Haufen zusammengelagert. Auf der Gelatineplatte entstehen nach 2 Tagen kleine gelbliche Kolonien, um welche sich bereits eine flache Einsenkungszone bemerkbar macht. Die jüngsten Kolonien sind kreisrund oder oval oder auch an einer Stelle ausgebuchtet. Oberfläche fein granuliert. Kontur scharf aber feingezackt; Farbe braungelb. Von der Mitte der Kolonie gehen strahlenförmige Streifen wie bei einem Wagenrade aus. Im Stichkanal gelbe Kolonien, welche bald verflüssigen. Wächst auf Kartoffeln gelbe Überzüge bildend.

Sarcina lutea *(Schröder)*. Runde, etwa 1 μ große Zellen zu Paketen vereinigt. Wächst auf Gelatineplatten nach 2 Tagen zu gelben kleinen Punkten, welche unregelmäßig gestaltet und ausgebuchtet erscheinen. Im Stichkanal wächst sie zu bald verflüssigenden Massen. Häufig zufällige Verunreinigung der Platten aus der Luft.

Sarcina alba *(Zimmermann)*. Der vorigen ähnlich mit weißer Farbe wachsend.

Sarcina paludosa *(Schröter)* wenig studiert. Zellen 2 μ dick, Kolonien gelblich. Häufig in städtischen Abwässern und regelmäßig in deren Schlamm nachzuweisen. Verflüssigt Gelatine.

Streptococcus margaritaceus *(Schröter)*. Ketten mit 6 bis 20 Gliedern, welche die Größe der meisten Kokken übertreffen. Vorwiegend in städtischen Abwässern, besonders im Bodensatz.

Bacillus mesentericus fuscus *(Flügge)*. Kurzer Bazillus, seltener in Fäden, aber oft zu 2—4 Individuen verbunden, lebhaft beweglich. Bildet kleine, regellos verteilte Sporen. Verflüssigung der runden weißen Kolonien schnell, wobei bräunliche Farbe auftritt. Wächst auf Kartoffeln und bildet zuerst glatte, gelbliche Wucherungen, welche bald runzlich und braun werden. Häufig im Wasser.

Bacillus mycoides *(Flügge)*. Bazillen etwas größer und plumper als Heubazillen, langsam beweglich, oft Scheinfäden bildend. Sporen groß, mittelständig, ellipsoidisch. Die Kolonien erinnern an Schimmelpilzkolonien. Verflüssigen schnell. Auf Agar gutes wurzelähnliches Wachstum, auf Kartoffel schmieriger, weißer Belag. Starker Eiweißzersetzer. Sehr häufig in Wasser.

Bacillus subtilis *(Ehrenberg)*. Die etwa 0·8 bis 1·2 μ dicken und 3- bis 4mal so langen Stäbchen sind lebhaft schlängend beweglich. Sporen glänzend in der Mitte oder gegen das Ende zu, keimen an ihrer Längsseite aus; sehr widerstandsfähig. Kolonien auf Gelatine anfangs kleine weiße Punkte, welche bald verflüssigen. Dabei tritt um das dunklere Zentrum eine hellere Zone auf, in welche ein Strahlenkranz hineinragt. In Bouillon tritt eine Hautbildung an der Oberfläche auf; auf Agar dicke faltige Haut, auf Kartoffeln dicke, weiße rahmartige Auflagerungen. Häufig im Wasser.

Bacillus fuscus *(Zimmermann)*. Kleine Stäbchen mit abgerundeten Enden und unregelmäßigen Konturen. Kolonien Knöpfchen von brauner Farbe, der Rand ist glänzend lichtbrechend. Verflüssigt nicht. Häufig.

Bacillus violaceus berolinensis (Pseudomonas violacea *Schröter*). Beweglich 0·8 μ breite, 1·7 μ lange Stäbchen meist zu zweien, ovale Sporen bildend, lebhaft beweglich. Kolonien unregelmäßig umrandet, verflüssigen schnell, wobei sich auf dem Boden der Einsenkung blauviolette Bakterienmassen ansammeln. Auf Agar und Kartoffeln langsam zu einem violetten Überzug wachsend. Oft häufig z. B. in der Spree, Themse auftretend.

Bacillus proteus. Proteus vulgaris *(Hauser)*. Schlanke dünne, lebhaft bewegliche Stäbchen, oft Involutionsformen zeigend; Die Kolonien bilden gelbe Klümpchen, welche in der Mitte verflüssigter Gelatine schwimmen. Die Verflüssigung ist mit Fäulnisgeruch verbunden. Wächst auf Agar in dünner, weißer glänzender Schicht. In Wässern, in denen Fäulniserscheinungen vor sich gehen, häufig. Den Proteusarten wird häufig toxische Wirkung beigemessen.

Bacillus fluorescens liquefaciens *(Flügge)* (Pseudomonas fluorescens). Meist kurze, lebhaft bewegliche Stäbchen, oft zu zweien oder in Fäden, sporenlos. Form der Kolonien wechselnd, weiß. Nach kurzer Zeit tritt Verflüssigung ein, dabei ist die Gelatine grün mit starker Fluorescenz gefärbt. Wächst auf Agar, dasselbe grüngelb färbend. Verschiedene andere beschriebene Arten fluorescierender Bakterien sind wahrscheinlich mit dem B. fluorescens liquefaciens identisch. Außerordentlich häufig in Wasser, auch guten Fluß- und Teichwässern; bewirkt hauptsächlich die schnelle Verflüssigung der Gelatineplatten.

Bacillus fluorescens non liquefaciens. Dem vorigen sehr ähnlich. Kolonien in der Tiefe rund, an der Oberfläche zackig ausgebreitet. Verflüssigt nicht. Sehr häufig in Wasser. Ist vielleicht nur eine Varietät des Bac. fluorescens liquefaciens.

Mikrospira saprophiles *(Weibel)*. Vibrio saprophiles. Kommaförmiger Vibrio etwa 2 μ lang, häufig Doppelkomma von S-förmiger Gestalt

bildend. Kolonien klein, kreisrund, bei durchfallendem Lichte braungelb, verflüssigen nicht. Kommt in Kanalschlamm vor.

Spirillum volutans *(Ehrenberg).* Lange schraubenförmige Spirillen mit polaren Geißeln. Zellinhalt körnig. Wie *Cohn* sagt, ein Riese unter den Bakterien. Selten in städtischen Abwässern.

Spirillum volutans *(Kutscher).* Kürzer und dicker als das vorige. Häufig in faulenden Flüssigkeiten.

Spirillum undula *(Ehrenberg).* Schrauben gekrümmt, meist nur einen halben oder ganzen Schraubengang von 4—5 μ Höhe darstellend. Kolonien rund, scharfrandig, etwas grünlich gefärbt ohne Oberflächenwachstum. Häufig in Tümpeln, regelmäßig in gestandenen städtischen Abwässern.

(Literatur über Wasserbakterien: Anleitung der Bestimmung der Wasserbakterien von *Fuller* und *Johnson*. Journ. of exper. med. Vol. **4**, p. 609 (1899); *G. C.* und *P. F. Frankland*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. **6**, 1889; *Tils*, ebenda, Bd. **9** (1890); *Lustig*, Diagnostik der Bakterien des Wassers. 2. Aufl. Jena und Turin 1893. *Migula*, Kompendium der bakteriol. Wasseruntersuchung. Wiesbaden 1901.)

Nachweis des Bacterium coli und einiger pathogener Bakterienarten.

Bacterium coli.

Das Bacterium coli, welches zuerst von *Escherich* [1]) regelmäßig im Säuglingsdarm aufgefunden wurde, ist ein konstanter Bewohner des menschlichen und tierischen Dickdarms. Es bildet kurze, mäßig bewegte Stäbchen ohne Sporen; die Bewegung wird durch Geißeln hervorgerufen. Das Bacterium wächst sowohl bei Anwesenheit wie Abwesenheit von Sauerstoff bei gewöhnlicher und bei Bruttemperatur. Auf Gelatineplatten bilden sich innerhalb der Gelatine weißliche, stecknadelkopfgroße Kolonien, welche auf der Oberfläche sich häutchenartig zu weinblattähnlichen Gebilden ausbreiten. Dieselben sind eigentümlich gefaltet und haben große Ähnlichkeit mit den Kolonien der Typhusbazillen. Das Wachstum ist jedoch weit schneller. Gelatine wird nicht verflüssigt. In Bouillon tritt allgemeine Trübung ein, oft bildet sich an der Oberfläche ein Häutchen. Trauben- und Milchzuckerbouillon werden unter Säure- und Gasbildung vergoren. Das Gas besteht aus Kohlensäure und Wasserstoff. In peptonhaltigen Nährmedien wird Indol gebildet. Nitrate werden zu Nitriten reduziert. Zu *Gram*scher Färbung verhält sich der Organismus negativ.

Wenn es auch nicht ausgeschlossen ist, daß das weit verbreitete Bacterium coli gelegentlich auch in gutes Wasser gelangt, so deutet doch das öftere und das Auftreten in größerer Menge auf Verunreinigungen mit Darminhalt, und insofern kann der Nachweis als wichtiger Indikator für derartige Infektion dienen.

---

[1]) *Escherich*, Fortschritte d. Med. 16 u. 17 (1885).

Nicht immer wird es gelingen, das Bacterium coli in Wässern direkt nachzuweisen. Auch das Eintreten der Trübung in Bouillon nach dem *Petruschky*schen Thermophilentiter ist noch kein Beweis für seine Anwesenheit, jedenfalls muß weitere Prüfung vorgenommen werden. Um in anscheinend reinen Wässern den Organismus nachzuweisen, nimmt man zunächst eine Anreicherung des Bacterium coli vor, indem man 10 cm^3 Wasser mit $^1/_{10}$ Volum konzentrierter Peptonlösung im Gärkölbchen (Fig. 74) bei 46° wachsen läßt. Nach 24—48 Stunden ist Trübung durch Bacterium coli eingetreten, welches bei genannter Temperatur im Gegensatz zu vielen anderen Bakterien noch wächst *(Eijkman)*.

Nach *Bulin* wendet man eine Mannitbouillon an mit 2% einer 0·1%igen Neutralrotlösung. Bei Anwesenheit von Bacterium coli in dem damit versetzten Wasser und bei einer Temperatur von 46° ist das Gärkölbchen mit Gas gefüllt und die Farbe ist gelblichgrün fluoreszierend geworden. Wird ein Teil der Flüssigkeit mit alkalischer Lackmustinktur versetzt, so wird dieselbe rot. Die Methode beruht auf der Eigenschaft gewisser Farbstoffe, andere Bakterien als Bacterium coli in ihrem Wachstum zu schädigen. Ähnlich wie Neutralrot wirkt Malachitgrün. Ist durch solche vorbereitende Methoden die Anwesenheit von Bacterium coli wahrscheinlich geworden, so schreitet man noch zur Isolierung durch Plattengießen und zu weiteren morphologischen und biologischen Prüfungen. Der gesamte Nachweis gestaltet sich zweckmäßig folgendermaßen:

Fig. 74.

1. Thermophilentiter nach *Petruschky*,
2. Impfung des letzten getrübten Röhrchens in:
   a) Traubenzuckeragar. Bei Bruttemperatur Gasbildung;
   b) Lackmusmolke. Rotfärbung;
   c) In Neutralrotagar. Gelbfärbung.

3. Die Prüfung eines Originalröhrchens oder Kölbchens auf Indol. Letztere wird so ausgeführt, daß man den Inhalt mit einer Spur Natriumnitrit und verdünnter Schwefelsäure versetzt. Bei Anwesenheit von Indol entsteht infolge der Nitrosoindolbildung Rotfärbung. In Bouillon, welche in der Regel salpetersaure Salze enthält, welche durch Bacterium coli reduziert werden, kann der Zusatz von Nitrit unterbleiben. Ist die Färbung sehr schwach, so setzt man etwas Amylalkohol zu, welcher beim Umschütteln die rote Farbe annimmt.

Typhusbazillen.

Da der Nachweis der Typhusbazillen in Trinkwasser, speziell in Brunnenwasser nicht immer leicht ist, so sind die zahlreichen Angaben in der Literatur über ihr Vorkommen mit einer gewissen Vorsicht aufzunehmen; vielfach mag der Nachweis durchaus nicht absolut sicher geführt worden sein. Besonders ist die Anwesenheit zahlreicher anderer Bakterien

der Erkennung sehr hinderlich, in hohem Grade störend aber wirkt die Anwesenheit vieler Kolibakterien, welche ja viele Eigenschaften mit den Typhusbazillen gemein haben. Die Schwierigkeiten wachsen und sind nur durch sehr eingehende Untersuchungen zu überwinden, wenn es sich um die Abgrenzung letzterer von sehr ähnlichen, z. B. Paratyphus, handelt. Man überlasse dann die Untersuchung einem erfahrenen Bakteriologen. Von den zahlreichen in der Literatur angegebenen Methoden soll nur eine empfohlen werden, welche nach dem heutigen Stand der Frage die besten Garantien bietet.

Ein größeres Quantum des zu untersuchenden Wassers (2—3 *l*) werden nach *Ficker* [1]) in einem möglichst schmalen sterilen Glaszylinder mit 8 *cm*³ 10%iger Sodalösung alkalisiert, danach mit 7 *cm*³ 10%iger Ferrisulfatlösung versetzt und mit Glasstab gut umgerührt. Nun läßt man im Eisschrank gut absetzen. Die Fällung vollzieht sich in 2—3 Stunden. Nach dieser noch suspendiert gebliebene Flöckchen enthalten nachweisbar nur minimale Mengen von Bakterien. Etwa an der Glaswand oder an der Oberfläche befindliche größere Flocken setzen sich bei leichter Erschütterung des Glases schnell ab. Das überstehende Wasser wird abgesaugt oder abgehebert, der Niederschlag oder Teile desselben werden in sterile Reagensgläser gegossen. Nun fügt man von einer 25%igen Lösung von neutralem weinsaurem Kali zunächst zirka ½ des Volumens des im Glase befindlichen Niederschlages zu, setzt einen ausgekochten Kork- oder Gummistopfen auf und schüttelt kräftig. Man kann den Niederschlag völlig lösen, wenn man weitere Lösung des weinsauren Kalis tropfenweise zugibt und gut schüttelt. Da man jedoch zur nachfolgenden Aussaat nicht die ganze Menge des gelösten Niederschlages verwenden kann, so wartet man die völlige Lösung nicht ab — überhaupt ist schnelles Arbeiten zu empfehlen —, sondern läßt die restierenden Flocken im Reagensglase sich absetzen, entnimmt mit steriler Pipette einen Teil des überstehenden und verdünnt in sterilem Glase mit zwei Teilen steriler Bouillon. Von dieser Mischung streicht man große Drigalskischalen aus (bei Flußwässern etwa 0·3 *cm*³ auf eine Schale).

Bei weitem zuverlässigere Resultate erhält man, wenn man sich einer größeren Zentrifuge bedient. Man setzt dann den auf sterile Zentrifugengläser gefüllten Wasserquanten entsprechende Menge Soda und Eisensulfat zu, rührt um und zentrifugiert. Das Lösen des Niederschlages wird gleich im Zentrifugenglase vorgenommen.

Die *Drigalski*schen Schalen sind 18—20 *cm* Durchmesser besitzende Glasdoppelschalen. Sie werden sterilisiert und mit *Drigalski-Conradi*schem Nährboden beschickt.

Nach Aufstreichen der eventuell Typhusbazillen enthaltenden Eisenbouillonlösung stellt man die Schalen 20—24 Stunden in den Brutschrank bei 37°. Kolibakterien bilden dann rote Kolonien, während Typhusbazillen zu blauen glasigen Kolonien wachsen.

---

[1]) *Ficker*, Hyg. Rundschau. Nr. 1 (1904).

Auch die *Ficker-Hoffmann*sche Methode[1]) hat sich gut bewährt. Danach reichert man die Typhusbazillen unter Anwendung von Koffein als Hemmungsmittel für Saprophyten an. Bezüglich dieser und anderer Methoden sei auf die Literatur verwiesen.[2]) Hat man verdächtige Kolonien erhalten, so folgt zunächst genaues mikroskopisches und biologisches Studium der Bakterien. Als bestes diagnostisches Mittel andern ähnlichen Mikroben gegenüber hat sich die Agglutinationsprobe mit spezifischem Immunserum erwiesen.

Beschreibung der Methode nach Anleitung für die bakteriologische Feststellung von Typhus. (Veröffentl. aus dem Kais. Ges.-Amt. 1904. Ziff. 2. Bd. 1.)

1. Vorläufige Prüfung der verdächtigen Kolonien in hängenden Tropfen in 0·8⁰/₀iger Kochsalzlösung und einem Tröpfchen Immunserum bei schwacher Vergrößerung. Es muß mit dem möglichst hochwertigen Serum bei Verdünnung 1 : 100 sofort oder doch nach 20 Minuten im Brutschrank bei 37⁰ deutliche Häufchenbildung eintreten.
2. Bestimmung der Agglutinierbarkeit im Reagensglase.
3. Die Ausführung von Tierversuchen.

Genauere Angaben darüber und über andere Methoden findet man bei *Ohlmüller-Spitta*[3]) beschrieben.

Vibrio cholerae asiaticae.

Der Choleravibrio bildet gekrümmte Stäbchen mit endständiger Geißel, ist lebhaft beweglich und wächst besonders bei Bruttemperatur. Nach *Gram* ist er nicht färbbar. Auf Gelatinenährböden tritt Verflüssigung ein, die Kolonien sind rund, von grober Struktur und erscheinen wie mit Glassplittern übersät. Nach längerer Zeit treten am Rande feine Spitzen auf. Auf Agar bilden sich weiße, glänzend transparente und schwach irisierende Auflagerungen. In Peptonlösungen bildet der Choleravibrio Indol. Nitrat wird zu Nitrit reduziert. Fügt man daher zu Cholerakulturen in Peptonbouillon, welche fast stets Spuren von Nitrat enthält, Schwefelsäure, so tritt die Nitrosoindolreaktion auf.

Da die Choleravibrionen sehr empfindlich bereits gegen Spuren von Säuren sind, so werden sie in sauren Abwässern nie vorkommen.

Nachweis.

1 *l* Wasser oder mehr wird mit 100 cm^3 Peptonlösung (siehe Reagentien) versetzt und in Kölbchen à 100 cm^3 verteilt. Man läßt bei 37⁰ 12 Stunden lang stehen und prüft mikroskopisch. Von der Flüssigkeitsoberfläche, welche

[1]) *Ficker-Hoffmann*, Hyg. Rundschau. 1 (1904); Arch. f. Hyg. 49. 229 (1904).

[2]) *Drigalski* und *Conradi*, Zeitschr. f. Hyg. 39. 283; *Endo*, Zentralbl. f. Bakt. I. 0. 35. 109; *Löffler*, Deutsche med. Wochenschr. 1581 (1907); *Gruber* und *Durham*, Münchener med. Wochenschr. 285. 1896 usf.

[3]) *Ohlmüller-Spitta*, Untersuchung und Beurteilung des Wassers und Abwassers. Berlin 1910.

bei der Prüfung die meisten Bakterien zeigt, impft man Gelatine- und Agarplatten und untersucht die nach 18stündigem Stehen bei 22° auf Gelatine entstandenen Kolonien. Die Agarplatten läßt man bei 37° stehen. Nach *Dieudonné* verwendet man stark alkalische Blutagarplatten, auf denen der Choleravibrio im Gegensatz zum Bacterium coli sehr gut gedeiht. Wie bei Typhusbazillen, so existiert auch bei Choleravibrionen die Fähigkeit, mit spezifischem Serum Agglutinationserscheinungen zu zeigen. Dazu treten Tierversuche nach *Pfeiffer*.

Milzbrand.

Milzbrandbazillen oder -Sporen kommen gelegentlich in Abwässern von Gerbereien vor, wo milzbrandhaltige Häute verarbeitet werden: hauptsächlich finden sie sich dann im Schlamm.

Die Milzbrandbazillen bilden 1·5—2 μ breite und 1·5—4 μ lange, an den Enden abgerundete Stäbchen. (Bei gefärbten Präparaten erscheinen die Enden scharf abgeschnitten.) Eigenbewegung ist nicht vorhanden. Die Bazillen wachsen bei Luftzutritt bei gewöhnlicher Temperatur: schneller bei 37°. Bei Luftzutritt werden sehr widerstandsfähige Sporen gebildet. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Die Kolonien auf Gelatine zeigen oft einen gelockten Rand. Zum Nachweis verwendet man eine Fällungsmethode wie bei Typhus. Den Niederschlag erhitzt man eine halbe Stunde auf 60°, wobei die meisten anderen Bakterien zugrunde gehen und legt Gelatine und Agarplatten an. Eventuell kann vorher eine Anreicherung in Bouillon vorgenommen werden.

3. Die mikroskopisch-biologische Untersuchung.

Kolkwitz und *Marsson*[1]) haben etwa 300 pflanzliche Organismen aufgeführt, welche für die Beurteilung der Selbstreinigungskraft unserer heimischen Wässer und somit auch für die Kritik der Beschaffenheit der verschiedenen Wässer in Betracht kommen. Wenn man nun noch die Fauna berücksichtigt und erwägt, daß jene 300 nur die wichtigsten Organismen repräsentieren, so erhellt, daß für die genaue biologische Untersuchung die Kenntnis einer großen Formenzahl erforderlich ist. Unter Umständen ist daher die Untersuchung seitens eines speziellen Biologen nicht zu umgehen. Vielfach jedoch werden die Verhältnisse nicht so kompliziert liegen, und es wird sich auch dem Experten, welcher, ohne spezieller Fachmann zu sein, die Hauptformen zu erkennen und zu unterscheiden versteht, die Möglichkeit bieten, sich ein Bild von der biologischen Beschaffenheit eines Wassers zu machen. Sehr erleichtert werden derartige Arbeiten durch die Aufstellung bestimmter Organismen als Leitorganismen, welche für Wässer von spezifischer Beschaffenheit charakteristisch sind. Auf diese wird im Folgenden fast ausschließlich Rücksicht genommen werden.

[1]) *Kolkwitz* und *Marsson*, Mitt. d. Kgl. Versuchs- u. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung. 1. S. 33 (1902); *Marsson*, Ebenda 125 (1904); *Kolkwitz* und *Marsson*, Ber. d. Deutschen bot. Ges. 26a. 505; *Metz*, Mikroskopische Wasseruntersuchung etc.

Die Methode der Untersuchung.

Erforderliche Apparate, Instrumente etc.

Zur Beobachtung der Wasserflora und Fauna bedarf man verschiedener Vergrößerungen in Form von Lupen und mikroskopischen Systemen. Starke Vergrößerungen wie bei der bakteriologischen Untersuchung kommen nur ausnahmsweise vor. Bereits mit gewöhnlichen Lupen von etwa 15facher Vergrößerung läßt sich ein guter Teil von Wasserorganismen erkennen. Anastigmatlupen mit etwa 27facher Vergrößerung und sogenannte Planktonlupen mit 40facher Vergrößerung *(C. Zeiss)* (Fig. 75) ergänzen dieselben. Letztere gestatten z. B. die größeren Gattungen der Süßwasserkieselalgen; recht gut zu erkennen.

Fig. 75.

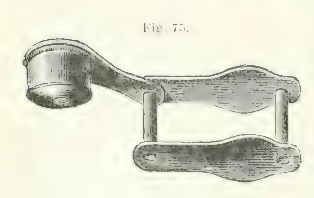
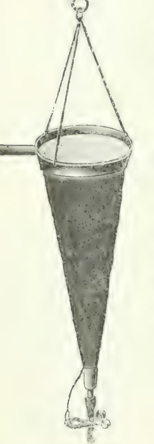


Fig. 76.

Fig. 77.



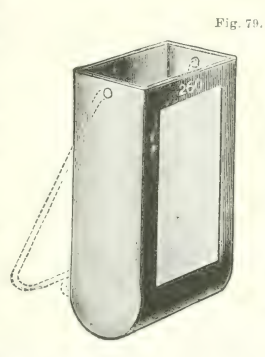
Für stärkere Vergrößerungen dienen die bekannten Mikroskope. Da die biologische Untersuchung oft an Ort und Stelle ausgeführt werden muß, auch vorläufige Orientierungen unumgänglich sind, so sind für solche Arbeiten bequeme Mikroskope konstruiert worden, welche als Reisemikroskope sich durch kompendiöse Form und Leichtigkeit auszeichnen. Sehr empfehlenswert ist das von *R. Kolkwitz* angegebene und von der Firma *Himmler* in Berlin konstruierte Exkursionsmikroskop (Fig. 76), dessen Stativ aus einer Legierung von Nickel und Aluminium angefertigt ist. Tubus und Schieberhülse bestehen aus Messing. Revolver für 2 Objektive. Einstell- und Objekttischschraube aus Stahl. Die Grobeinstellung geschieht durch Verschieben des Tubus, die Feineinstellung durch Bewegen des Objekttisches. Zusammengelegt hat das Instrument eine Länge von 20 *cm* und läßt sich bequem in einer Tasche unterbringen. Das Gewicht beträgt 600 *g*. Das Instrument besitzt keinen Fuß, sondern ist mittelst einer Klammer am Tisch zu befestigen. Als Systeme wählt man am besten 100- und 400fache Vergrößerungen. (Objektiv 3 und Okular 4; Objektiv 6 und Okular 4.)

Das Planktonnetz und Planktonsieb.

Die im Wasser frei schwimmenden Substanzen nennt man Plankton. Dasselbe besteht entweder aus Organismen (eigentliches Plankton) oder abgestorbenem und nicht organisiertem Material, Detritus etc. (Pseudoplankton). Um dasselbe der Untersuchung zu unterziehen, resp. seine Menge zu bestimmen, bedient man sich der Planktonnetze (Figur 77). Dieselben sind aus feinster Seidengaze hergestellte, spitz zulaufende Beutel (Müllergaze Nr. 16 bis 20), deren Maschenweite etwa $^{1}/_{20}$ *mm* beträgt.

Fig. 78.

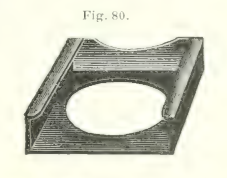
Fig. 79.

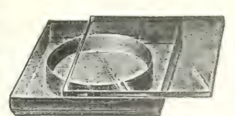




An ihrem unteren Ende tragen sie einen durch einen Quetschhahn verschließbaren Gummischlauch, der obere Bügel läßt sich mittelst Rohr oder mittelst Schnüre an dem Ausziehstock (Fig. 78) befestigen. Man bedient sich ihrer in der Weise, daß man sie durch das Wasser zieht oder daß man abgemessene Quantitäten Wasser durchlaufen läßt, während der Hahn geschlossen bleibt. Das Zurückgebliebene kann zuletzt durch Öffnen des Hahnes in ein graduiertes Rohr abgelassen, dort gemessen, eventuell durch Trocknen und Wägen nach seinem Gewicht bestimmt werden. Planktonsiebe aus Metall besitzen den Vorteil, leichter gereinigt, eventuell sterilisiert werden zu können. Das in Fig. 79 angegebene kupferne oder zinkene besitzt an einer Seite ein etwa 50 cm^2 großes Sieb aus Phosphorbronze. Die Schwebestoffe werden vermittelst Durchgießen gewonnen. Will man das Plankton nicht sofort untersuchen, so konserviert man es durch Zufügen einiger Kubikzentimeter Formalin.

Fig. 80.



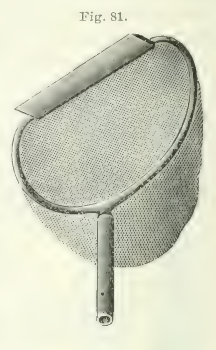


Die **Planktonkammer** (Fig. 80) besteht aus einer Glasscheibe, welche eine Vertiefung von genau 1 cm^3 Inhalt besitzt und welche mittelst einer zweiten Glasscheibe verschlossen werden kann. Ist die Kammer gefüllt, so hält diese Scheibe durch Adhäsion von selbst, man sichert sie

trotzdem durch eine Feder. Man schöpft damit direkt aus dem Wasser und kann vermittelst Lupe die Art und Anzahl sehr vieler Planktonorganismen bestimmen, besonders Algen, Protozoen und Rädertiere.

Der Pfahlkratzer (Fig. 81) dient zum Abkratzen von Zweigen, Pfählen etc. im Wasser.

Fig. 81.



Das Schilfmesser (Fig. 82) zum Abschneiden von Schilf.

Schlammbecher (Fig. 83), Siebe usw. vervollständigen das biologische Untersuchungsinventar.

Der mikroskopischen Untersuchung hat stets eine makroskopische voranzugehen, und sind hier ganz besonders die örtlichen Verhältnisse, die Beschaffenheit der Brunnen, Quellen, die geologischen Verhältnisse, Einflüsse von fremden Zuflüssen, der Zustand der höheren Flora, Beschaffenheit der Ufer usw. zu berücksichtigen.

Für die Untersuchung bedient man sich in der Regel nicht wie bei der bakteriologischen des hängenden Tropfens, sondern des auf einen Objektträger ausgebreiteten Wassers, welches man mittelst Pipette aufträgt und mit einem Deckglas bedeckt. Um das Präparat vor baldigem Austrocknen zu schützen, kann man ein Tröpfchen Glyzerin zufügen, schnell bewegliche Organismen betäubt man mittelst einer Spur Kokain. Schlamm verdünnt man mit Wasser und bringt davon nicht zu konzentrierte Mengen zur Untersuchung. Bei Verwendung zu großer Tropfen quillt ein Teil des Wassers an den Seiten des Deckglases hervor, mit ihm viele Organismen; man prüfe daher auch die hervorgequollenen Teile.

Fig. 82.

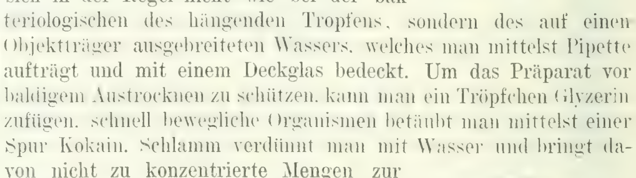


Fig. 83.

Es finden sich vielfach bei der biologischen Prüfung in:

Brunnen (keine Kesselbrunnen) mit gutem Wasser, welches mit Luft in Berührung ist, aber kein Licht empfängt:

Gallionella ferruginea in vereinzelten Fäden, Pilzmycel, Amöben, Rhizopoden, Krebschen, Quarz, Eisenoxyd, Detritus.

Kesselbrunnen bedeckt. Wie oben, vereinzelte freischwimmende Crustaceen.

Schlechte Brunnen (schlecht gedeckt mit Lichtzutritt). Zoogloeen von Bakterien, Kieselalgen, Ciliaten, Flagellaten, Nematoden, Schimmelpilze, Federn, Haare, Stärke, Pflanzenfasern.

Quellwasser. Sauerstofffreies, aus der Tiefe quellendes Wasser ist organismenfrei, während Wasser solcher Quellen, welche sich in mehr oder weniger oberflächlichen belüfteten Strängen, auf Wiesen oder in klüftigen

Geländen sammeln, Organismen der verschiedensten Ordnung enthalten kann *(Kolkwitz)*. In Grotten treten oft blinde Wasserorganismen auf, wie Proteus anginus, Asellus cavaticus und Gammarus subterraneus.

In Schwefelquellen finden sich Beggiatoa und Thiothrix. Am Licht entwickeln sich in sonst reinen Quellen gewisse Kiesel-, Rot- und Grünalgen.

Zisternen. Organismen aus den verschiedensten Familien, Schizomyceten, Euglenales, Cryptomonodales, Bacillariales, Protococcales, Confervales, Phycomycetes, Hyphomycetes, Daphnia pulex *(Kolkwitz)*.

Bei offenen Wässern, wie Fluß-, Teich- und Seewässern, ändert die Flora und Fauna je nach Beschaffenheit der Gewässer außerordentlich ab. Die beigefügte Tafel soll ein Bild von dieser Beschaffenheit geben, wie sie infolge der Selbstreinigungsvorgänge bezüglich der Organismen wechselt, zugleich stellen die einzelnen Organismen Leitorganismen für die Wässer verschiedenen Reinheitsgrades vor. Aus der polysaproben Zone mit ihrem Reichtum an stickstoffhaltigem organischen Material, ihren Reduktionsprozessen, ihrem geringen Sauerstoffgehalt, ihrem Reichtum an Kohlensäure, findet allmählicher Übergang in die metasaprobe Zone statt, wo vor allem Oxydationsprozesse auftreten. Das stickstoffhaltige Material ist bereits weit abgebaut. Die oligosaprobe Zone oder die Reinwasserzone zeigt geringen Gehalt an organischem Stickstoff, geringen Permanganatgebrauch, vorwiegend anorganische Stoffe. Dementsprechend gestaltet sich das mikroskopische Bild.

Wenn im folgenden die wichtigsten für die einzelnen Zonen besonders charakteristischen Organismen beschrieben werden, so mag der Umstand, daß dies nicht auf rein wissenschaftlicher Basis geschieht, mit der Absicht entschuldigt werden, daß es vor allem von Wert erscheint, die in das Auge springenden Merkmale hervorzuheben, welche es auch dem Nichtfachmann ermöglichen, ohne Schwierigkeit die wichtigsten Formen leicht zu erkennen und sich ein Bild der Wasserbeschaffenheit zu machen.

1. Polysaprobier.

Schizomyceten (siehe auch oben bei Bakterien):

Sphaerotilus natans (Tafel Nr. 1).

Zarte 2—3 μ dicke Fäden, welche aus einer Reihe Zellen bestehen, die von einer Scheide eingeschlossen sind. Die Fäden liegen meist dicht aneinander und bilden weiße Flocken, welche im Wasser befindliche Gegenstände schleimig überziehen. Auf den ersten Blick kann er makroskopisch mit Leptomitus verwechselt werden, während die mikroskopische Betrachtung sofort den Unterschied ergibt. Der Pilz findet sich besonders in seichtem, mäßig bewegtem Wasser in der kälteren Jahreszeit, wenn Abwässer aus Städten, Zuckerfabriken, Brauereien, Brennereien in das Wasser gelangen. Sphaerotilus ist ein typischer Abwasserpilz.

Erklärung der nebenstehenden Tafel.

Polysaprob:

1. Sphaerotilus natans $\frac{150}{1}$.
2. Spirillum volutans $\frac{150}{1}$.
3. Euglena viridis $\frac{250}{1}$.
4. Paramaecium caudatum $\frac{150}{1}$.
5. Colpidium colpoda $\frac{150}{1}$.
6. Polytoma uvella $\frac{150}{1}$.
7. Chromatium Okeni $\frac{150}{1}$.
8. Beggiatoa arachnoidea $\frac{150}{1}$.

α-Mesosaprob:

9. Oscillaria tenuis $\frac{300}{1}$.
10. Nitzschia palea $\frac{300}{1}$.
11. Hantzschia amphioxys $\frac{300}{1}$.
12. Leptomitus lacteus $\frac{100}{1}$.
13. Carchesium lachmanni $\frac{100}{1}$.
14. Anthophysa vegetans $\frac{150}{1}$.
15. Chlamydomonas De Baryana $\frac{300}{1}$.
16. Stigeoclonium tenue $\frac{150}{1}$.
17. Thiothrix nivea $\frac{500}{1}$.
18. Stentor coeruleus $\frac{75}{1}$.
19. Rotifer vulgaris $\frac{125}{1}$.

β-Mesosaprob:

20. Melosira varians $\frac{400}{1}$.
21. Stephanodiscus Hantzschianus $\frac{250}{1}$.
22. Navicula cuspidata $\frac{150}{1}$.
23. Cryptomonas erosa $\frac{300}{1}$.
24. Scenedesmus quadricauda $\frac{250}{1}$.
25. Actinophrys sol. $\frac{100}{1}$.
26. Vorticella convallaria $\frac{150}{1}$.
27. Anuraea aculeata $\frac{150}{1}$.
28. Daphnia pulex $\frac{30}{1}$.

Oligosaprob:

29. Ceratium hirundinella $\frac{175}{1}$.
30. Melosira granulata $\frac{400}{1}$.
31. Synura uvella $\frac{150}{1}$.
32. Asterionella gracillima $\frac{200}{1}$.
33. Bosmina cornuta $\frac{100}{1}$.
34. Anabaena Flos aquae var. circinalis $\frac{250}{1}$.
35. Dinobryon sertularia $\frac{200}{1}$.
36. Pediastrum pertusum $\frac{150}{1}$.

(Der Pfeil gibt die Richtung der Wasserströmung an.)

Fig. 10 und 11 nach *Van Heurck* }
„ 15 „ *Migula* } zum Teil
„ 23 „ *Lemmermann* } abgeändert,
„ 26 „ *Roux* }

die übrigen sind Originale.



Verlag von Urban & Schwarzenberg, Berlin und Wien.

Druck von Gottlieb Gistel & Cie., Wien.



Beggiatoa alba.

Freie Fäden, welche meist dünne, weiße, sammetartige Überzüge auf im Wasser liegenden Gegenständen bilden und bei der leisesten Berührung zerreißen. Die einzelnen Fäden sind bis 4 μ dick und unterscheiden sich dadurch von anderen Beggiatoen, z. B.: B. leptomitiformis und arachnoidea (Tafel Nr. 8). Die glänzenden Körnchen in der Zelle bestehen aus Schwefel. Der Pilz kommt nur in Gegenwart von Schwefelwasserstoff, also in Schwefelquellen oder in fäulnisfähigen Abwässern vor, wo er den Schwefelwasserstoff zu Wasser und Schwefel oxydiert. Typischer Abwasserpilz.

Chromatium Okenii (Tafel Nr. 7).

Dicke, zylindrische oder elliptische Zellen, 7·5 bis 15 μ lang, 5 bis 6·5 μ dick, an einem oder an beiden Polen mit Geißeln; der Zellinhalt ist rot gefärbt. Diese Schwefelbakterie kommt in Sümpfen und Teichen vor und färbt das ganze Wasser oft kirschrot, erstreckt sich bis zur mesosaproben Zone.

Lamprocystis roseopersicina.

Kugelige oder schwach elliptische Zellen von violetter Färbung mit kleinen Schwefelkörnchen gefüllt. Bildet oft Überzüge auf Blättern oder anderen im Wasser liegendem Material.

Euglena viridis (Tafel Nr. 3).

Der Körper ist spindelförmig, nach hinten verjüngt und in eine kurze Endspitze auslaufend, etwa 50 μ lang, 14 breit, mit Geißeln versehen, besitzt lebhaft gefärbten Chromatophor. Am Grunde der vorderen Falte befindet sich die Mundöffnung und ein roter Fleck. Überall in schmutzigem Wasser, besonders in Hausabwässern. Die grüne Färbung der Oberfläche von Teichen und Pfützen wird oft durch diesen Organismus bewirkt.

Protococcales.

Polytoma uvella (Tafel Nr. 6).

Der Körper ist eiförmig, Geißeln so lang wie der Körper an der Spitze. Oft in großen Mengen in Abwässern von Städten.

Ciliata.

Paramaecium caudatum (Tafel Fig. 4).

Körper schmal trapezoidisch, meist farblos, mit langen Wimpern besetzt. Sehr häufig in Abwässern, reicht in einzelnen Exemplaren in die mesosaprobe Zone.

Colpidium colpoda (Tafel Fig. 5).

Dem Paramaecium ähnlich, aber mehr nierenförmig. Vorderende nach links gedreht. Großes bis 160 μ langes Tier. Findet sich oft massenhaft in allen Abwässern und faulenden Wasserproben, kommt aber auch in der mesosaproben Zone vor.

Weitere mehr oder weniger polysaprobe Wasserbewohner sind: Hexamitus inflatus (Flagellaten), Vorticella microstoma (Ciliaten), Tubifex rivulorium (Vermes).

2. Mesosaprobier.

α-mesosaprob.

Schizomycetes.

Thiothrix nivea (Tafel Nr. 17).

Festsitzende sich nach dem Ende zu verjüngende Fäden mit Schwefelkügelchen gefüllt, makroskopisch weiße, flockige Überzüge an Stengeln, Wurzeln etc. bildend. Kommt auch in oligosaproben Schwefelquellen vor.

Schizophyceae.

Oscillatoria tenuis (Tafel Nr. 9).

Die geraden oder schwach gekrümmten Fäden liegen in schleimig flockigen oder dünnhäutigen tiefgrünen Lagern. Häufig in mäßig verschmutzten Abwässern.

Bacillariales.

Nitzschia palea (Tafel Fig. 10).

Schalenseite lanzettförmig mit stumpfen Enden, fein gestreift.

Hantschia amphioxys (Tafel Fig. 11).

Schalenseite etwas gebogen, mit vorgezogenen breiten Enden, stark gestreift. Kommt noch in stark verunreinigten Wässern vor.

Confervales.

Leptomitus lacteus (Tafel Fig. 12).

Ein für die α-mesosaprobe Zone charakteristischer Abwasserpilz, der oft in solchen Mengen vorkommt, daß das ganze Flußbett wie mit Fellen ausgefüllt erscheint, welche Steine und andere feste Gegenstände überziehen. Durch Loslösen gelangen die Flocken auch in die β-mesosaprobe Zone und weiter. Oft mit Sphaerotilus zusammen vorkommend. Die 16 bis 20 μ dicken, schwach verzweigten Fäden bilden gerade Schläuche ohne Querwände, welche an einzelnen Stellen eingeschnürt sind. An jeder Einschnürung sitzt eine Kugel, wie in einem Ventil. Bei lebenden Fäden sitzt dieselbe oft in der Mitte, bei toten stets an der Einschnürung. Durch Zersetzung kann der Organismus sehr lästig werden.

Stigeoclonium tenue (Tafel Nr. 16).

Dicke verzweigte Fäden mit zugespitzten Enden. Chromatophoren grün. Als Uferorganismus sehr verbreitet.

Hyphomycetes.

Fusarium aquaeductuum.

Das weiße, gegliederte Mycel öfters an Turbinen, Mühlrädern, und wenn massenhaft auftretend Moschusgeruch verbreitend. Die sichelförmigen Sporen bilden sich nur auf künstlichen Nährböden. Speziell häufig in Zellstoffabrikabwässern.

Flagellata.

Anthophysa vegetans (Tafel Nr. 14).

Stile meist durch Eisenoxyd gelbbraun gefärbt, wellig verbogen; Tiere mit spitzem Peristomrand bis 30 μ lang. Die Köpfchen lösen sich häufig los. Überziehen Flaschen, in denen mäßig verunreinigtes Abwasser aufbewahrt wird, oft mit einem braunen flockigen Überzuge. Besonders in Wässern, in welchen die Fäulnisvorgänge bereits beendet sind.

Stentor coeruleus (Tafel Nr. 18).

Der bis 1·5 *mm* lange Körper ist trompetenförmig, von blauer Farbe. Er schwimmt entweder frei umher oder setzt sich im Schlamme fest. Typischer α-mesosaprober Organismus.

Carchesium lachmanni (Tafel Nr. 13).

Der glockenförmige Körper sitzt an langen Stilen, welche verzweigt und kontraktil sind. An Gras, Schilf etc. hängend und weiße zarte Überzüge bildend. Sehr charakteristisch für die mesosaprobe Zone.

Rotatoria.

Rotifer vulgaris (Tafel Nr. 19).

Weit verbreitet. Der langgestreckte Körper kann teleskopartig zusammengezogen werden. 2 Augen. Meist frei im Plankton.

3. β-mesosaprobe.

Bacillariales.

Melosira varians (Tafel Nr. 20).

Die Zellen bestehen aus Kieselschalen, sind an den Kanten abgerundet und in Länge und Breite sehr wechselnd, meist an den Berührungsflächen mit einem Kranz kleiner Stacheln besetzt. Das Zellplasma enthält braune Chromatophoren. Überall gemein da, wo die Selbstreinigung weit vorgeschritten ist, besonders in der Uferregion.

Navicula cuspidata (Tafel Nr. 22).

Eine zu den größeren Arten gehörige Kieselalge, charakteristisch für die β-mesosaprobe Zone. Schalenseite elliptisch oder lanzettförmig, vor den Enden nicht eingeschnürt.

Stephanodiscus Hantzschianus (Tafel Nr. 21).

Oft in großer Menge im Plankton. Mit einer Reihe kleiner, meist schräg stehender Spitzen, im Winter bisweilen mit langen, steilabstehenden Borsten.

Cryptomonodales.

Cryptomonas erosa (Tafel Nr. 23).

Oft in großen Mengen im Plankton, so daß das Wasser davon trübe erscheint. Körper unsymmetrisch-elliptisch mit blaugrünen bis braunen Chromatophoren.

Protococcales.

Scenedesmus quadricauda (Tafel Nr. 24).

Die Kolonien werden aus 2 bis 8 walzenförmigen verwachsenen Zellen von 6—30 μ Länge gebildet, von denen die beiden äußersten einen gebogenen spitzen Stachelaufsatz tragen. Gehört zu den verbreitetsten Planktonalgen.

Pediastrum boryanum.

Randzellen mit zwei Fortsätzen. Innenzellen ganzrandig, zusammenschließend. Scheiben- oder rosettenförmige grüne Kolonien bildend.

Sarcodinen.

Actinophrys sol. (Tafel Nr. 25).

Sonnentierchen mit blassem schaumigen Plasmaleib, von strahlenförmigen Pseudopodien umgeben. Durchmesser 30 bis 50 μ. Kommen meist im Sommer vor.

Ciliata.

Vorticella convallaria (Tafel Nr. 26).

Körper kegelig, glockenförmig, hinter dem Peristom eingeschnürt, nach hinten verschmälert, grün. Sehr verbreiteter Bakterienfresser.

Rotatoria.

Anuraea aculeata (Tafel Nr. 27).

Sehr verbreiteter Planktonbewohner, in der kühleren Zeit meist häufiger als in der wärmeren. Faßförmig mit Panzer, am hinteren Ende mit zwei Dornen. Auge vorhanden.

Crustacea.

Daphnia pulex (Tafel Nr. 28).

In Teichen und Tümpeln oft in außerordentlicher Menge. Am hinteren Körperende mit Stachel. Mikroskopisch ist der Darmkanal deutlich zu erkennen.

4. Oligosaprobier.

Schizomycetes.

Chlamydothrix ochracea.

Farblose zylindrische Zellen, zu Fäden angeordnet, mit dünner Scheibe, im Alter von eingelagertem Eisenoxyd gelb bis braun werdend. In eisenhaltigen Wässern, welche noch organische Substanz enthalten, sehr häufig.

Crenothrix polyspora.

Eisenbakterie der Uferregion, nicht selten auch im Leitungswasser.

Schizophyceae.

Anabaena flosaquae var. circinalis (Tafel Nr. 34).

Oft Wasserblüte bildend. Unregelmäßig gebogene, oft knäuelförmig zusammengerollte Fäden aus kugeligen Zellen zusammengesetzt. Sporen länglich, etwas gebogen.

Chrysomonodales.

Dynobryon sertularia (Tafel Nr. 35).

Die Dinobryonarten gehören im Sommer oft zu den häufigsten Planktonwesen. Sie sind kleine Organismen mit länglichen braunen Chromatophoren, einem roten Augenfleck, einer längeren und einer kürzeren Geißel. Sie leben in durchsichtigen Gehäusen, welche zu besenförmigen Kolonien vereinigt sind. Besonders in größeren und kleineren Seen.

Synura uvella (Tafel Nr. 31).

Kugelige Familien aus stachligen keilförmigen dichtgedrängten Zellen bestehend. Häufiger Planktonorganismus, besonders in der kälteren Jahreszeit.

Peridiniales.

Ceratium hirundinella (Tafel Nr. 29).

Oft in großer Menge im Plankton reiner Seen. Körper vorn mit langem Rohransatz, hinten mit zwei oder drei langen Stacheln versehen. Der Panzer ist mit einem Leistennetz überzogen.

Bacillariales.

Melosira granulata (Tafel Nr. 30).

Kommt mit anderen Melosiraarten, z. B. M. Binderiana und arenaria, nicht selten im Plankton vor.

Asterionella gracillima (Tafel Nr. 32).

Eine der zierlichsten und häufigsten Planktonalgen. Die Einzelzellen sind an den Enden etwas verdickt in verschiedener Zahl zu sternförmigen Gebilden vereint.

Protococcales.

Pediastrum pertusum (Tafel Nr. 36).

Wie Pediastrum boryanum (s. dieses), aber die Innenzellen ausgebuchtet, Lücken lassend.

Reagentien.

A. Die für chemische und biologische Untersuchung erforderlichen Reagentien, Lösungen, Titerflüssigkeiten etc.

Für die chemischen Untersuchungen dienen die in jedem chemischen Laboratorium gebräuchlichen Reagentien in möglichster Reinheit. Sehr

zweckmäßig ist es, die gangbarsten Chemikalien resp. Lösungen in solcher Konzentration anzuwenden, daß der Gehalt annähernd einem einfachen oder mehrfachen des Normalgewichtes des gelösten Körpers entspricht. Man weiß dann sofort durch eine einfache Rechnung, wieviel des Reagens man verwendet, und das bewahrt oft vor einem schädlichen Zuviel oder Zuwenig.

In nachstehender Tabelle ist eine Zusammenstellung einer Reihe der gebräuchlichsten Reagentien gegeben. (Im chemischen Universitätslaboratorium zu Berlin gebräuchlich.)

Reagens	Spez. Gew.	Normalität	1 *l* Normallösung entspricht Kubikzentimeter	100 *g* enthalten	100 *cm*³ enthalten
Schwefelsäure konz. .	1·84	$36 \times \frac{H_2SO_4}{2}$	28	95·6 *g*	175·9 *g* H_2SO_4
Schwefelsäure verd. 1 *l* + 6·4 *l* Wasser .	1·16	$5 \times \frac{H_2SO_4}{2}$	200	21·5 *g*	24·5 *g* H_2SO_4
Salzsäure konz. . . .	1·19	12 HCl	82·5	37·2 *g* HCl	44·3 *g* HCl
Salzsäure verdünnt 1 *l* + 5 *l* Wasser . .	1·08	5 HCl	200	16·8 *g* HCl	18·2 *g* HCl
Salpetersäure konz. .	1·4	14·5 HNO_3	69	65·3 *g* HNO_3	91·4 *g* HNO_3
Salzsäure verdünnt 1 *l* + 2 *l* Wasser . .	1·17	5 HNO_3	200	27·1 *g* HNO_3	31·5 *g* HNO_3
Essigsäure konz. . .	1·06	18 $C_2H_4O_2$	56·5	100 *g* $C_2H_4O_2$	106 *g* $C_2H_4O_2$
Essigsäure verdünnt 1 *kg* + 1 *l* Wasser .	1·06	9 $C_2H_4O_2$	113	50 *g* $C_2H_4O_2$	53·1 *g* $C_2H_4O_2$
Kalilauge	1·32	7 KOH	129	33 *g* KOH	43·2 *g* KOH
Natronlauge 1 *kg* (ca. 90%) + 2 *l* Wasser .	1·36	10 NaOH	100	30 *g* NaOH	40 *g* NaOH
Ammoniak	0·91	13·3 NH_3	75	25 *g* NH_3	22·7 *g* NH_3
Bariumchlorid 1 *kg* + + 3·8 *l* Wasser . .	1·18	$2\frac{BaCl_2}{2}$	500	17·7 *g* $BaCl_2$	20·8 *g* $BaCl_2$

Empfindliche Lackmustinktur und Lackmuspapier nach *Tiemann*.

Der gepulverte, käufliche Lackmusfarbstoff wird wiederholt mit heißem destillierten Wasser behandelt. Die wässerigen Auszüge werden behufs Zersetzung der darin vorhandenen Karbonate mit Essigsäure gelinde übersättigt und auf dem Wasserbade bis zur Konsistenz eines dicken Extraktes, aber nicht bis zur Trockne, eingedampft. Den Rückstand verdünnt man allmählich mit 90%igem Alkohol, bringt das Gemisch in einem Kolben und fügt eine reichliche Menge 90%igen Alkohols hinzu. Es wird dadurch der gegen Säuren und Basen äußerst empfindliche Farbstoff gefällt, während ein weniger empfindlicher roter Farbstoff und Kaliumazetat in Lösung gehen. Man filtriert und wäscht mit Weingeist aus. Der zurückbleibende

Farbstoff wird in destilliertem Wasser unter Erwärmen gelöst und die Lösung filtriert.

Lackmuspapier bereitet man, indem man durch die in einer Schale befindliche Lösung Streifen feinen, ungeleimten Papiers zieht, nachdem man mittelst äußerst geringer Mengen Natronlauge oder Schwefelsäure blau oder rot gefärbt hat.

Phenolphthaleinlösung.

1 *g* Phenolphthalein in 100 cm^3 96%igem Alkohol gelöst.

Rosolsäure.

0·2 Rosolsäure in 100 cm^3 Alkohol gelöst und mit Barytwasser neutralisiert.

Methylorange.

0·1 *g* Methylorange in 100 cm^3 Wasser gelöst.

Normalsäuren und Alkalien sowie die übrigen Titerflüssigkeiten.

Zweckmäßig verwendet man die käuflichen Lösungen und prüft sie auf ihre Richtigkeit. Bezüglich der Selbstdarstellung sei auf die Lehrbücher der Maßanalyse verwiesen.

Alkalisches Bleipapier.

Eine verdünnte Lösung von Bleiazetat wird solange mit Natronlauge versetzt, bis der anfangs entstehende Niederschlag eben wieder gelöst ist. Man tränkt damit Filtrierpapier, welches man nach dem Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur in gut schließenden Gläsern aufbewahrt.

Seifenlösung zur Härtebestimmung.

150 *g* Bleipflaster werden auf dem Wasserbade erweicht und mit 40 *g* reinen Kaliumkarbonats verrieben, bis eine völlig gleichförmige Masse entstanden ist. Man zieht dieselbe mit starkem Alkohol aus, läßt absitzen, filtriert, destilliert den Alkohol ab und trocknet im Wasserbade. 20 Teile der trockenen Seife werden in 10 Teilen verdünntem Alkohol von 56 Volumprozenten gelöst. Um den Titer festzustellen, wägt man 0·559 bei 100° getrocknetes Bariumnitrat oder 0·523 *g* trockenes Bariumchlorid ($BaCl_2 + 2 H_2O$) in destilliertem Wasser und füllt zum Liter auf. 100 cm^3 dieser Lösung enthalten die 12 *mg* Kalk oder 12 deutschen Härtegraden äquivalente Menge Barium. Man bringt davon 100 cm^3 in das Stöpselglas und titriert bis zur Schaumbildung. Die eventuell zu konzentrierte Seifenlösung wird mit Alkohol von 56 Volumprozent so verdünnt, daß genau 45 cm^3 erforderlich sind, um in 100 cm^3 der Barytlösung Schaum zu erzeugen.

Eisenlösung zur kolorimetrischen Eisenbestimmung.

0·898 *g* reiner Eisenalaun (Kaliumferrisulfat) werden in 1 *l* destilliertem Wasser gelöst. 1 cm^3 = 0·1 *mg* Fe.

Indigolösung zur Bestimmung der Salpetersäure.

1 Teil reines, fein geriebenes Indigoblau trägt man langsam in 6 Teile rauchende Schwefelsäure ein, was ohne starke Erwärmung geschehen muß. Nach einigem Stehen gießt man in die 40fache Menge Wasser und filtriert. Eine solche Lösung wird so lange mit Wasser verdünnt, bis sie anfängt, bei 12—15 *mm* dicker Schicht durchsichtig zu werden.

Ferner löst man 1·871 *g* trockenes Kaliumnitrat in 1 *l* Wasser. 1 *cm*³ entspricht 1 *mg* N_2O_5. Man mischt 1 *cm*³ mit 24 *cm*³ destillierten Wassers und titriert in der bei Salpetersäure angegebenen Weise. Nach Ausfall der Titration wird die Indigolösung soweit verdünnt, daß 6—8 *cm*³ 1 *mg* N_2O_5 entsprechen.

Jodzinkstärkelösung.

4 *g* Stärke werden mit wenig Wasser fein gerieben und langsam unter Umrühren in eine zum Sieden erhitzte Lösung von 20 *g* Zinkchlorid in 100 *cm*³ Wasser gegossen. Man kocht, bis die Stärke möglichst gelöst ist, verdünnt mit Wasser, setzt 2 *g* Zinkjodid zu, füllt zum Liter auf und filtriert.

Kaliumnitritlösung.

0·406 *g* reines Silbernitrit werden in heißem Wasser gelöst und mit reinem Kaliumchlorid zersetzt. Nach dem Erkalten wird zum Liter aufgefüllt und filtriert; 100 *cm*³ werden davon wieder auf 1 *l* verdünnt; 1 *cm*³ = 0·01 *mg* N_2O_3.

*Nessler*sches Reagens.

50 *g* Kaliumjodid werden in etwa 50 *cm*³ heißen destillierten Wassers gelöst und mit einer konzentrierten heißen Quecksilberchloridlösung versetzt, bis der entstehende rote Niederschlag aufhört, sich zu lösen. Man filtriert, vermischt mit der Auflösung von 150 *g* Kaliumhydrat in 300 *cm*³ Wasser, verdünnt auf 1 *l*, fügt noch eine kleine Menge Quecksilberlösung zu, läßt absitzen und gießt klar ab.

Ammonchloridlösung.

3·147 *g* reines Ammoniumchlorid werden zu 1 *l* gelöst. 1 *cm*³ davon enthält 1 *mg* NH_3; 50 *cm*³ zu 1 *l* verdünnt entsprechen 0·05 *mg* NH_3.

Phenolschwefelsäure.

Man gibt 50 *g* Phenol zu 1 *l* Schwefelsäure vom spez. Gew. 1·84.

B. Reagentien für die bakteriologische Untersuchung.

Karbolfuchsin.

10 *cm*³ reiner kalt gesättigter alkoholischer Fuchsinlösung mischt man mit 10 *cm*³ 5%iger Karbolsäurelösung. Anwendung in Verdünnung 1:5 bis 10 Teile Wasser.

Methylenblau.

1 cm^3 einer 1%igen Kalihydratlösung wird mit destilliertem Wasser auf 100 cm^3 verdünnt und mit 30 cm^3 einer gesättigten alkoholischen Methylenblaulösung vermischt.

Nährbouillon.

500 *g* feingehacktes Rindfleisch (nicht Pferdefleisch, da dasselbe immer Glykogen enthält) werden mit 1 *l* Leitungswasser übergossen, umgerührt und an einem kühlen Orte 12 Stunden stehen gelassen, durch ein Tuch gegossen und abgepreßt, so daß die ablaufende Flüssigkeit 1 *l* beträgt. Dazu fügt man 10 *g* Pepton (*Witte*), 5 *g* Kochsalz und erhitzt im Wasserbade bis zur Lösung. Dann fügt man soviel verdünnte Sodalösung zu, bis blauviolettes Lackmuspapier nicht mehr gerötet wird. Man kocht im Dampftopf eine Stunde, filtriert in Kölbchen oder in Reagensgläser und sterilisiert wieder.

Nährgelatine.

Die Darstellung geschieht wie bei Nährbouillon, nur fügt man vor dem Kochen noch 100 *g* gute weiße Gelatine hinzu, erwärmt auf 50° bis zur Lösung, stellt die Reaktion richtig, erhitzt im Wasserbad oder Dampftopf eine Stunde, prüft nochmals die Reaktion, filtriert, füllt in Reagensgläser, welche mit Watte verschlossen werden und sterilisiert an 3 Tagen je eine Viertelstunde. Die Gelatine muß absolut klar sein.

Anstatt vom Fleisch auszugehen, empfiehlt das Kaiserliche Gesundheitsamt die Verwendung von Fleischextrakt.

2 Teile Liebigsches Fleischextrakt, 2 Teile Wittes Pepton, 1 Teil Kochsalz werden in 200 Teilen Wasser gelöst, eine halbe Stunde im Dampftopf erhitzt und nach dem Erkalten filtriert. Zu 900 Teilen dieser Flüssigkeit werden 100 Teile weiße Speisegelatine gefügt, nach dem Erweichen eine halbe Stunde im Dampf erhitzt, zu der heißen Flüssigkeit 30 Teile Normalnatronlauge und dann tropfenweise so viel Natronlauge gegeben, bis auf glattem blauviolettem Lackmuspapier neutrale Reaktion sichtbar wird. Man erhitzt dann wieder eine Viertelstunde im Dampftopf und fügt $1^1/_2$ Teile kristallisierte (nicht verwitterte) Soda zu, erhitzt 3 Stunden im Dampf und filtriert durch feinporiges Papier. Die Gelatine wird dann sofort in sterile Gläser gefüllt, welche dann nochmals etwa 20 Minuten im Dampf sterilisiert werden. Solche Gelatine soll unter 26° nicht weich werden.

Nähragar.

Statt der Gelatine fügt man zu der Fleischextraktlösung ceteris paribus 2% Agar-Agar in Form von Fäden oder Pulver. Das Filtrieren geschieht am besten im Dampftopf, nachdem man mittelst des Weißen eines Hühnereis in der Hitze geklärt hat.

Peptonwasser.

100 Wasser, 1% Pepton, $^1/_2\%$ Kochsalz, erhitzt, filtriert, sterilisiert.

Peptonwasser für Choleravibrionen.

100 Wasser, 10 Pepton, 5 Kochsalz, 1 Kaliumnitrat, 0·2 Soda, erhitzt, filtriert, sterilisiert.

Peptonwasser für Untersuchung auf Bact. coli.

Wasser 100, Pepton 10, Kochsalz 5, Traubenzucker 10, erhitzt, filtriert in Kölbchen à 100 *cm*³ sterilisiert.

Nährboden nach *Drigalsky* und *Conradi*.

1½ *kg* fettfreies Pferdefleisch werden fein gehackt, mit 2 Liter Wasser übergossen und bis zum nächsten Tage im Eisschrank stehen gelassen. Man preßt mittelst Presse ab und fügt 1% Pepton Witte, 1% Nutrose, 0·5% Kochsalz zu, worauf man 1 Stunde lang kocht. Man filtriert, versetzt mit 3% Agar, kocht drei Stunden im Dampftopf. Darauf wird eine Milchzucker-Lackmuslösung zugefügt, die man erhält, wenn man 300 *cm*³ Lackmuslösung Kahlbaum 10 Minuten kocht, mit 30 *g* Milchzucker versetzt und wieder 15 Minuten kocht. Die Agarlösung wird dadurch rot gefärbt, weshalb man mittelst 10%iger Sodalösung schwach alkalisch macht. Dazu kommen sodann 6·0 *cm*³ reiner 10%iger Sodalösung und 20 *cm*³ einer frischen Lösung von 0·1 *g* Kristallviolett 0 chem. rein in 100 *cm*³ destilliertem Wasser, welches vorher sterilisiert wurde.

Mannitbouillon nach *Bulir*.

1 *kg* feingehacktes Rindfleisch wird mit 2 Liter Wasser 24 Stunden mazeriert, durch Leinwand filtriert und ausgepreßt. Pro Liter setzt man zu 25 *g* Pepton, 15 *g* Kochsalz, 30 *g* Mannit. Neutralisieren usw. wie bei Bouillon.

Neutralrotagar.

In 500 *cm*³ destilliertem Wasser werden 5 *g* Liebigsches Fleischextrakt, 2·5 *g* Kochsalz und 10 *g* Pepton gelöst. Nach Neutralisieren mit Soda kocht man eine Stunde und filtriert. Man setzt dann 0·3% Agar zu, löst durch Erhitzen im Dampftopf, filtriert und gibt pro 100 Kubikzentimeter 1 *cm*³ reiner konzentrierter Neutralrotlösung und 0·15 *g* Traubenzucker zu. Man verteilt in Reagensgläser und sterilisiert 1½ Stunde.

Lackmusmolke nach *Petruschky*.

1 Liter Magermilch wird mit 1 Liter Wasser verdünnt, auf 40° erwärmt und mit soviel verdünnter Salzsäure versetzt, daß das Kasein ausfällt. Man filtriert, neutralisiert mit Soda, läßt 2 Stunden in Dampf stehen, filtriert, kocht und prüft die Reaktion nochmals. Dieselbe soll neutral sein. Sodann gibt man sterile Lackmustinktur bis zur violetten Färbung zu.

Molekulargewichtsbestimmungen in Lösungen.

Von **Rudolf Hanslian**, Halle a. S.

Die nachstehende Arbeit soll eine Ergänzung der im ersten Band dieses Handbuches unter physikalisch-chemischen Methoden mehr im theoretischen Sinne geschriebenen Abhandlung über Molekulargewichtsbestimmungen darstellen. In erster Linie wird in dieser Arbeit Wert auf die praktische Seite der Methoden gelegt. Die Vorschriften sind daher ausführlich und so gehalten, daß man an Hand derselben Bestimmungen ausführen kann. Die Abhandlung selbst macht keinerlei Anspruch auf Vollständigkeit, sie vermeidet nach Möglichkeit das bereits im ersten Band Gesagte zu wiederholen, auch legt sie sich bei der Besprechung der neueren Fortschritte auf diesem Gebiete Einschränkung auf. Sie ist ausschließlich für den Biochemiker bestimmt und bringt daher den Bestimmungen in Wasser als Lösungsmittel besonderes Interesse entgegen.[1])

Die Abbildungen zu den Fig. 90, 91 und 92 sind dem Verfasser durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrat *Beckmann*-Berlin zur Verfügung gestellt worden, dem auch an dieser Stelle herzlich dafür gedankt wird.

Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung.

Die kryoskopische Methode.

Die Ermittelung des Molekulargewichtes auf dem Wege der Gefrierpunktserniedrigung ist bei biochemischen Arbeiten die am meisten gebräuchliche Methode. Sie ist verhältnismäßig leicht auszuführen und sowohl bei schwer wie leicht flüchtigen Substanzen anwendbar. Diesen Vorzügen stehen wiederum bedeutende Nachteile gegenüber. So setzt die Kryoskopie eine genügende Löslichkeit der zu bestimmenden Substanz in dem betreffenden Lösungsmittel bei niederer Temperatur voraus. Ein zweiter Nachteil besteht darin, daß nicht immer das reine Lösungsmittel allein ausfriert, sondern, wenn auch das erstarrte Lösungsmittel den zu-

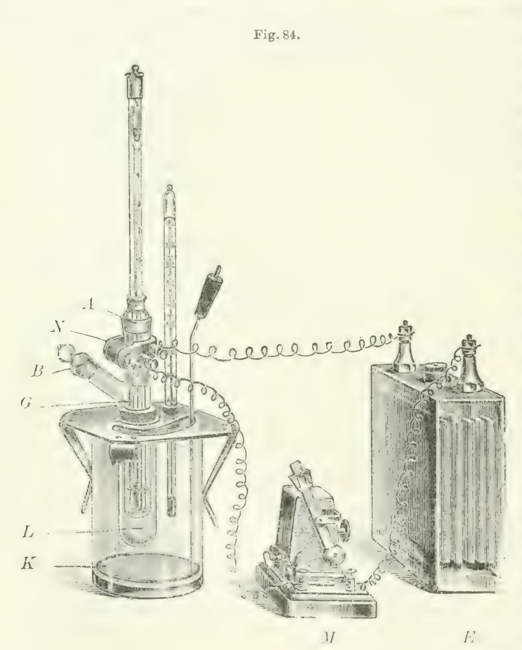
[1]) Als Bezugsquelle für die nachstehend erwähnten Apparate neuerer Konstruktion in sachgemäßer Ausführung sind die Firmen *O. Pressler* und *F. O. R. Götze*, beide in Leipzig, zu nennen.

gesetzten Stoff zu lösen vermag, eine feste Lösung entsteht, deren Gehalt mit der Konzentration der flüssigen Lösung steigt und dadurch ein zu großes Molekulargewicht bewirkt. Dazu tritt bei Bestimmungen, welche eine größere Genauigkeit beanspruchen, die in der Kryoskopie schwieriger als in der Ebullioskopie zu erfüllende Aufgabe, für eine peinliche Konstanthaltung der Außentemperatur zu sorgen und zugleich dieselbe so zu wählen, daß Gefriertemperatur und Konvergenztemperatur[1]) möglichst zusammenfallen. Schließlich ist auch darauf hinzuweisen, daß kryoskopische Methoden meist zeitraubender als ebullioskopische sind.

Apparatur zur Gefrierpunktserniedrigung.

Der von *Beckmann* zu kryoskopischen Versuchen konstruierte Apparat besteht aus einem starken Probierrohr *G* mit seitlichem Tubus (vgl. Fig. 84). Die beiden Öffnungen sind durch eingeschliffene Glasstopfen *A* und *B* verschlossen. In der Mitte des Stopfens *A* sitzt das Beckmannthermometer, dessen unterer Teil mit dem Quecksilberreservoir etwa 2 *cm* oberhalb des Bodens des Gefrierrohres endet. Die durch *B* verschlossene Öffnung dient zum Einwurf der Substanz. Im Gefrierrohr befindet sich ein Platinrührer, der elektrisch in Bewegung gesetzt wird. Hierzu dient ein kleiner Elektromagnet *N*, welcher bei der Schließung des Stromes aus dem Akkumulator *E* einen am oberen Ende des Rührers angebrachten eisernen Ring anzieht. Bei Unterbrechung des Stromes fällt der Rührer wieder zurück. Die regel-

Fig. 84.



[1]) Unter Konvergenztemperatur ist diejenige Temperatur zu verstehen, welche der Inhalt des Gefriergefäßes bei gegebenem Kältebad und gegebener Rührgeschwindigkeit, ohne zu gefrieren, annehmen würde.

mäßige Schließung und Öffnung besorgt das Metronom M. Der untere Teil des Gefrierrohres ist von einem gläsernen Luftmantel L umgeben, welcher die Aufgabe hat, den Temperaturausgleich zwischen Gefrierrohrinhalt und Kältebad gleichmäßiger zu gestalten. Zur Aufnahme des Kältegemisches dient der weite Stutzen K. In ihm befindet sich ein zweites Thermometer und ein aus Metall verfertigter Handrührer.

An Stelle dieser elektrischen Rührvorrichtung kann man sich auch eines einfachen Glasrührers bedienen. Man verschließt alsdann die Öffnung des Gefrierrohres bei A mit einem doppelt durchbohrten Korkstopfen. In der mittleren Hauptbohrung sitzt das Thermometer, durch die seitliche führt ein als Handrührer gebogener Glasstab, dessen Führung derart ist, daß das Thermometer von seinem unteren, ringförmigen Teil beim Auf- und Abbewegen eingeschlossen wird (vgl. Fig. 85). Auch Handrührer ganz aus Platin oder aus einem gläsernen Stiel mit unten eingeschmolzenem, horizontalen Platinring finden in gleicher Weise Anwendung. Sie sind keineswegs praktischer als die einfachen Glasrührer. Beim Gebrauch von Handrührern hat man stets darauf zu achten, daß der ringförmige Teil genügend weit gebogen ist und nicht während des Rührens am Quecksilbergefäß des Thermometers schleift. Bei kryoskopischen Bestimmungen in Wasser als Lösungsmittel ist in Berücksichtigung des langsamen Erstarrens die Anwendung eines elektromagnetisch betriebenen Rührwerkes vorzuziehen.

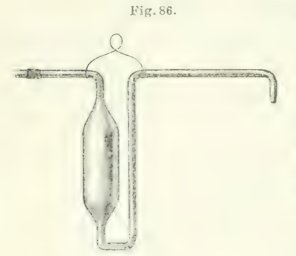
Ausführung der Gefrierpunktsbestimmung in Wasser als Lösungsmittel.

Da in der Biochemie die kryoskopische Bestimmung in Wasser als Lösungsmittel die meiste Anwendung findet, soll dieselbe hier besonders berücksichtigt werden.

Zur Einstellung des Beckmannthermometers für diesen Versuch bringt man dasselbe in ein Glasgefäß, welches ein Gemisch aus Eis und Wasser enthält. Nach vollzogenem Temperaturausgleich nimmt man das Thermometer schnell heraus, erwärmt das untere Quecksilbergefäß einen Augenblick in der Handfläche und schlägt rasch das im oberen Reservoir angesammelte Quecksilber ab. Man taucht das Thermometer wiederum in Eiswasser und beobachtet die Einstellung des Quecksilberfadens. Hierbei hat man darauf zu achten, daß sich derselbe genügend hoch in der Skala einstellt, damit ausreichend Raum zum Ablesen der Erniedrigungen vor-

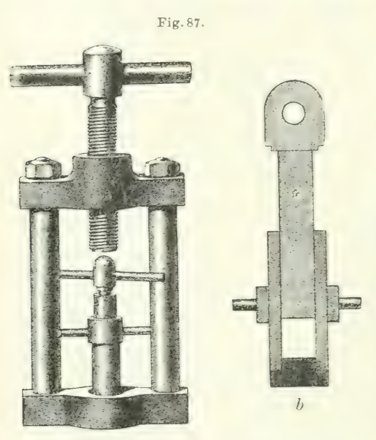
handen ist. Glückt die Einstellung nicht gleich beim erstenmal, so muß man durch vorsichtiges Abschlagen eventuell Zufügen kleiner Quecksilbermengen aus dem oberen Gefäß den Fehler zu verbessern suchen. Die Handhabung des Beckmannthermometers erfordert Geduld und einige Übung.

Fig. 86.



Das zur Bestimmung als Lösungsmittel dienende Wasser hat man vorher nochmals destilliert. Man tariert unter Beobachtung einer Genauigkeit von Zehntelgrammen das leere Gefrierrohr mit einem Reservepfropfen auf der Wage, indem man es in ein Becherglas hineinstellt, gießt das Wasser bis zu einer Höhe von etwa 6 bis 7 *cm* — das Quecksilbergefäß des Thermometers muß völlig von Flüssigkeit umgeben sein — hinein, verschließt und wägt wieder. Zugleich wiegt man, bevor man mit dem eigentlichen Versuch beginnt, die zu bestimmende Substanz ab. Hat man es hierbei mit Flüssigkeiten zu tun, so bedient man sich vorteilhaft des nachstehend gezeichneten Pyknometers (vgl. Fig. 86).

Fig. 87.



Man tariert denselben mit Inhalt auf einer quantitativen Wage und bestimmt nach jeder Gefrierpunktserniedrigung den durch die angewandte Substanz herrührenden Gewichtsverlust. Bei Anwendung fester Stoffe erfolgt das Einbringen der Substanz in Gestalt eines feinen Pulvers, welches sich in einem langen, schmalen Probierrohr befindet, so daß man es direkt durch den Seitentubus in das Lösungsmittel schütten kann. Das verschlossene Röhrchen mit Inhalt ist vorher gewogen und wird nach jeder Einzelbestimmung zurückgewogen. Ist der zu bestimmende Stoff in Wasser leicht löslich, so ist seine Anwendung in Gestalt von Pastillen ratsam. In dieser Form, welche bei ebullioskopischen Bestimmungen fast ausschließlich in Betracht kommt, hat man die größte Sicherheit, daß die Substanz quantitativ in das Lösungsmittel gelangt. Die sorgfältig zerriebene Substanzmenge wird in nebenstehender Pastillenpresse (Fig. 87) unter nicht allzu starkem Druck komprimiert. Die Handhabung des Instrumentes ist ohne weiteres aus der Zeichnung verständlich.

Ist die Substanz hygroskopisch, so trocknet man die Pastillen vor der Wägung im Exsikkator. Die erste Pastille, die trotz peinlicher Sauberhaltung der Presse meist verunreinigt ist, wird verworfen.

Die Bestimmung selbst führt man folgendermaßen aus: Im Außenbade erzeugt man mittelst Eiswasser und Kochsalz eine Temperatur von —2 bis —3°. Für die Konstanthaltung der einmal gewählten Außentemperatur muß während der ganzen Versuchsdauer peinlichst Sorge getragen werden. Ein Schwanken derselben unter oder über 0·1° ist nicht statthaft. Man kann diese Schwierigkeit beheben, wenn man zwischen Luftmantel und Kältebad noch einen zweiten Glaszylinder, welcher ein wässeriges „Kryohydrat"[1]) enthält, schaltet. Ein solches stellt man sich durch Ausfrierenlassen konzentrierter Salzlösungen dar. Unter beständigem Sinken der Temperatur scheidet sich aus der Lösung so lange Eis und Salz ab, bis die kryohydratische Temperatur erreicht ist. Von da an bleibt die Temperatur bis zum völligen Erstarren konstant. Die nachstehende Tabelle zeigt die angenäherten, kryohydratischen Temperaturen von konzentrierten Salzlösungen, die für kryoskopische Bestimmungen in Wasser Anwendung finden können:

$FeSO_4$—1·824°,
$Na_2CO_3 + 10 H_2O$—2·1°,
KNO_3—2·9°,
($MgSO_4$—3·9°).

Schaltet man ein derartiges Kryohydrat dazwischen, so wählt man die Temperatur des Außenbades nur einige Grade niedriger als die kryohydratische Temperatur und ist dadurch einer andauernden Temperaturbeobachtung enthoben.

Man setzt nun den Rührer in Bewegung und beobachtet das langsame Fallen des Quecksilberfadens. Derselbe beginnt plötzlich zu steigen, erst schnell, dann langsamer. Während der Rührer in ununterbrochener Tätigkeit bleibt, verfolgt man das Ansteigen des Quecksilbers, bis es den höchsten Punkt erreicht hat, auf dem es, ohne zu fallen, einige Zeit stehen bleiben muß. Es ist dieses der Gefrierpunkt des Lösungsmittels. Man taut alsdann den Inhalt des Gefrierrohres durch die Wärme der Hand auf und wiederholt den Versuch, bis in sehr engen Grenzen übereinstimmende Werte erhalten sind. Um den Grad der Überkaltung, der bei Wasser ein beträchtlicher ist, zu regeln, bewirkt man durch Impfen ein schnelleres Gefrieren. Zu diesem Zweck benetzt man 2 bis 3 kleine, durchbohrte Glasperlen oder Siedegranaten in einem engen Probierrohr mit Wasser, bringt letzteres im Kältebade zum Gefrieren und schüttet das Ganze durch den Seitentubus des Gefrierrohres in die überkaltete Flüssigkeit.

In das aufgetaute Lösungsmittel bringt man jetzt quantitativ eine abgewogene Menge der zu bestimmenden Substanz, sorgt durch Rühren

[1]) Vgl. *Landolt-Börnstein,* 3. Aufl. S 517. — *Ostwald-Luther,* 3. Aufl. S. 101.

oder auch Erwärmen für eine völlige Auflösung und beobachtet nun unter sorgfältiger Berücksichtigung der oben genannten Bedingungen die Einstellung des Quecksilberfadens. Den gefundenen Wert kontrolliert man durch eine nochmalige Bestimmung. Die erhaltene Zahl ist der Gefrierpunkt der Lösung; die Differenz zwischen dieser und dem Gefrierpunkt des Lösungsmittels ist die der Menge der angewandten Substanz entsprechende Gefrierpunktserniedrigung. Zu der Lösung gibt man nun eine zweite Menge Substanz, bestimmt in der neuen Konzentration den Gefrierpunkt und führt so in einer Versuchsreihe nacheinander etwa 4 bis 5 Einzelbestimmungen aus.

Berechnung der Versuche.

Das gesuchte Molekulargewicht ergibt sich aus nachstehender Formel:

$$m = \frac{k \cdot g \cdot 100}{\delta \cdot l}.$$

Hierbei bedeutet δ die gefundene Erniedrigung.[1] Sie ist der Molekulargröße umgekehrt proportional. Je größer das Molekulargewicht, um so kleiner die gefundene Erniedrigung und umgekehrt. g bedeutet die Menge der zur Bestimmung gelangten Substanz in Grammen, l die des angewandten Lösungsmittels in Grammen. Es ist zweckmäßig, g auf 100 *g* Lösungsmittel zu berechnen. Man erhält dann einfach:

$$m = \frac{k \cdot \text{konz.}}{\delta}.$$

k bedeutet in beiden Formeln eine Konstante, und zwar ist k diejenige Erniedrigung, die ein Grammolekül einer beliebigen Substanz in 100 *g* Lösungsmittel hervorruft, vorausgesetzt, daß keinerlei Dissoziations- oder Assoziationserscheinungen hierbei in Frage kommen. Die Gefrierkonstante ist für das betreffende Lösungsmittel spezifisch. Es ist ohne weiteres aus der Umkehrung der obigen Gleichung ersichtlich:

$$k = \frac{m \cdot \delta}{\text{konz.}},$$

daß man k bestimmen kann, wenn m bekannt ist. Man hat daher zur Konstantenermittelung nur nötig, eine Gefrierpunktsbestimmung in dem betreffenden Lösungsmittel mit einer Substanz von bekanntem Molekulargewicht auszuführen und nach der obigen Formel zu berechnen.[1] Auf diesem experimentellen Wege sind die Konstanten fast aller in Betracht kommenden Lösungsmittel gefunden worden. Für Wasser hat man so die kryoskopische Konstante 18·6° ermittelt. Theoretisch läßt sich die Gefrierkonstante aus der Schmelzwärme berechnen. Nach *van't Hoff* ist

$$k = \frac{0{\cdot}02\, T^2}{W}.$$

[1]) Über Dissoziations- und Assoziationsgrad s. Bd. 1, S. 505; ebenda, Leitfähigkeitsmessungen, S. 485.

In dieser Formel bedeutet T die absolute Schmelztemperatur, d. h. Schmelztemperatur + 273, und W die Schmelzwärme des Lösungsmittels.[1]) Es ist aus obiger Formel ersichtlich, daß die Gefrierpunktserniedrigung, die ein Stoff von bekanntem Molekulargewicht hervorbringt, umgekehrt zur Ermittelung der Schmelzwärme des Lösungsmittels dienen kann. Bei der Berechnung der Versuche addiert man zuerst die angewandten Substanzmengen sowie die gefundenen Erniedrigungen der Reihe nach, ermittelt dann den Prozentgehalt der Lösung und berechnet aus addierten Erniedrigungen und Konzentrationen die einzelnen Molekularwerte. Die nachstehende Versuchsreihe möge als Beispiel dienen.

Kryoskopische Bestimmung von Rohrzucker in Wasser.
$k = 18{\cdot}6^0$.

Menge des angewandten Wassers in Gramm (l)	Gramm Rohrzucker, Einzelmengen addiert (g)	Gramm Rohrzucker in 100 g Wasser $\left(\frac{g.100}{l} = \text{konz.}\right)$	Gefundene Erniedrigungen, Einzelmengen addiert (δ)	Gefundenes Molekulargewicht (m)	Berechnetes Molekulargewicht
20	0·8643	4·3215	0·240	335	342
	(+ 0·6501)		(+ 0·167)		
20	1·5144	7·572	0·407	346	—
	(+ 1·015)		(+ 0·283)		
20	2·5294	12·647	0·690	341	—

Mittelwert des gefundenen Molekulargewichtes = 344.

Gefrierpunktsbestimmungen in Lösungsmitteln mit höherem Gefrierpunkt als Wasser.

Die Ausführung kryoskopischer Versuche in Lösungsmitteln von höherem Schmelzpunkt ist im Prinzip dieselbe wie in Wasser. Für den Biochemiker kommen hauptsächlich folgende Substanzen in Betracht:

	Kryoskopische Konstante	Schmelzpunkt
Benzol	50^0	$+ 5{\cdot}4^0$
Nitrobenzol	70^0	$+ 5{\cdot}5^0$
Eisessig	39^0	$+ 17^0$
Phenol	73^0	$+ 42{\cdot}5^0$
Thymol	92^0	$+ 44^0$
Naphtalin	80^0	$+ 69^0$

Die Hauptschwierigkeit beim kryoskopischen Arbeiten in diesen Lösungsmitteln liegt auch hier in der Erzielung einer richtigen Konvergenztemperatur. Bei Bestimmungen in Benzol, Nitrobenzol und Eisessig arbeitet man unter gleichen Versuchsbedingungen wie in Wasser. Die Temperatur im Außenbade, die man etwa 2^0 unter dem Gefrierpunkt des betreffenden

[1]) Ein ausführliches Verzeichnis der Schmelzwärmen, soweit dieselben bestimmt sind, findet man in *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen.

Lösungsmittels wählt, ist hier — da sie über 0° in der Nähe der Zimmertemperatur zu liegen kommt — leichter konstant zu halten als bei Bestimmungen in Wasser. Schwieriger sind die Verhältnisse bei Lösungsmitteln, welche einen höheren Schmelzpunkt besitzen, wie zum Beispiel bei Phenol, Thymol und Naphtalin. Hier wird eine besondere Versuchsanordnung notwendig.

Fig. 88.

Zur Aufnahme des Außenbades dient ein Siedemantel *M* aus Glas (vgl. Fig. 88), in dessen einer Öffnung *a* ein Steigrohr mit Kühler, in dessen anderer *b* ein Thermometer sitzt. Im Mantel selbst erzeugt eine gleichmäßig siedende Flüssigkeit eine konstante Temperatur. Man wählt diese Flüssigkeit so, daß ihr Siedepunkt wenige Grade unter dem Gefrierpunkt des Lösungsmittels liegt. Die Schmelzpunkte von Phenol und Thymol sind 42·5° und 44°. Für beide Bestimmungen würde sich Äthyläther (Siedepunkt 35°) eignen, dessen Siedepunkt man durch Zusatz von Naphtalin oder Kampfer um einige Grade erhöht hat. Ein derartiges Außenbad ist in seiner Temperatur völlig konstant, vorausgesetzt, daß man gleichmäßig erhitzt und durch genügende Kühlung ein Abdestillieren verhindert. Bei Versuchen in Naphtalin (Schmelzpunkt 69°) verwendet man als Außenflüssigkeit Chloroform (Siedepunkt 61°), dessen Siedepunkt in gleicher Weise auf etwa 67° erhöht wird. Bei der Auswahl von Flüssigkeiten zur Erzeugung konstanter Außentemperaturen kommen naturgemäß nur solche, die unzersetzt sieden, in Betracht. Die Anwendung von Flüssigkeitsgemischen — z. B. von Alkohol und Äther — ist zu verwerfen, da sich leicht durch fraktionierte Destillationserscheinungen die Siedetemperatur ändert. In den Fällen, bei denen zur Erlangung der richtigen Konvergenztemperatur eine Substanz mit passendem Siedepunkt fehlt, ist man gezwungen, die Bestimmung in einem Paraffinöl- oder Schwefelsäurebade, dessen Temperatur durch vorsichtiges Erhitzen geregelt wird, auszuführen.

In neuerer Zeit haben *E. Beckmann* und seine Mitarbeiter diese umständliche und ungenaue Arbeitsmethode beseitigt, indem sie auf zwei verschiedene Arten — einerseits durch elektrische Öfen, andrerseits durch Druckregulatoren — beliebige Temperaturkonstanz im Außenmantel erzeugten. Der Vorzug des von ihnen konstruierten, elektrisch geheizten Ofens liegt darin, daß je nach der angewandten Stromstärke und Größe des Widerstandes eine beliebig hohe, um Zehntelgrade konstante Außentemperatur erreicht wird, während es mit Hilfe des Manostaten möglich ist, die im Außenmantel siedende Flüssigkeit durch Evakuieren schnell auf jeden beliebigen, niedrigeren Siedepunkt einzustellen. Die genauere Beschreibung ihrer Versuchsanordnungen an dieser Stelle würde zu weit führen; es sei daher auf die fortgesetzt erscheinenden Originalarbeiten *Beckmanns* in der Zeitschrift für physikalische Chemie hingewiesen.

Die als Lösungsmittel zur Anwendung gelangenden Substanzen müssen chemisch rein sein. Sie dürfen demnach — ebensowenig wie die zur Bestimmung kommende Substanzmenge — weder Feuchtigkeit, noch anderweitige Verunreinigung aufweisen. Ebenso ist es selbstverständlich, daß die gesamte Apparatur vor dem Gebrauch peinlichst gesäubert und getrocknet wird. Ein einfaches Ausspülen des Apparates mit Alkohol und Nachspülen mit Äther genügt nicht, da erfahrungsgemäß stets geringe Äthermengen im Gefrierrohr zum Nachteil der Bestimmung verbleiben. Am vorteilhaftesten erhitzt man den Apparat im Thermostaten und saugt alsdann trockene Luft hindurch. Bei Versuchen in Benzol verwendet man direkt das *Kahlbaum*sche Präparat „Benzol zur Analyse und zur Molekulargewichtsbestimmung". Thymol und Naphtalin werden vor ihrer Anwendung in einer Platinschale über ihren Schmelzpunkt erhitzt und im Exsikkator erkaltet. Phenol unterwirft man zweckmäßig zweimal der fraktionierten Destillation und gebraucht nur die mittlere Fraktion, die man direkt in das völlig trockene Gefrierrohr hineindestilliert, in ähnlicher Weise verfährt man mit Eisessig (*Kahlbaum* Schmelzpunkt 16·7°) und Nitrobenzol. Außerdem hat man bei Versuchen in Eisessig und in Phenol noch eine weitere Vorsicht zu beachten. Diese Substanzen ändern infolge ihrer stark hygroskopischen Eigenschaften schon durch Spuren von Wasser, die sie während der Bestimmungsdauer aufnehmen, ihren Schmelzpunkt. Man ist daher gezwungen, eine Berührung des frisch destillierten Lösungsmittels mit der Außenluft nach Möglichkeit zu vermeiden. Zu diesem Zwecke darf der Gefrierapparat keine Korkverschlüsse, sondern nur eingeschliffene Glasstopfen aufweisen, auch ist die Anwendung eines elektrisch betriebenen Rührwerkes erforderlich. Das Lüften des Glasstopfens beim Einwurf der Substanz hat mit größter Schnelligkeit zu geschehen.

Ausführung der Gefrierpunktsbestimmung in Naphtalin als Lösungsmittel.

An dem nachstehend beschriebenen Versuche in Naphtalin soll die Praxis der Gefrierpunktsbestimmung in einem Lösungsmittel von höherem Schmelzpunkt erörtert werden.

Die obere Öffnung des Gefrierrohres *G* (vgl. Fig. 88) wird durch einen doppelt durchbohrten Korkstopfen verschlossen. In der mittleren Hauptöffnung sitzt das Beckmannthermometer, durch die seitliche führt ein als Handrührer gebogener Glasstab, dessen Führung derart ist, daß das Thermometer von seinem ringförmigen Teil beim Auf- und Abbewegen eingeschlossen ist (vgl. auch Fig. 85). Man führt nun in den leeren Apparat Rührer und Thermometer ein und läßt letzteres ein bis zwei Zentimeter über dem Boden des Gefrierrohres enden. Darauf wird durch die Seitenöffnung das abgewogene Naphtalin eingeschüttet, durch Klopfen auf den Boden gebracht und nun in einem Paraffinölbade über seinen Schmelzpunkt erhitzt, wobei man der Gleichmäßigkeit halber eine Temperatur von 95° nicht überschreitet. Ist dieselbe erreicht, so läßt man den Apparat unter öfterem Rühren noch einige Zeit bei dieser Temperatur im Paraffinölbade, nimmt ihn schnell heraus, wischt ihn ab und setzt ihn fest in den Asbestpapierverschluß des Siedemantels, dessen Temperatur durch Sieden einer Lösung von Naphtalin in Chloroform auf etwa 67° gehalten wird. Mit Hilfe des Handrührers bringt man das Naphtalin zum Erstarren, und zwar wird so lange gerührt, bis der Quecksilberfaden des Thermometers nach der Unterkühlung den höchsten Punkt erreicht hat. Nach genauer Feststellung des Erstarrungspunktes wird wiederum im Paraffinölbade das Naphtalin auf 95° erhitzt, die zu bestimmende Substanz in Tablettenform hineingeworfen, unter Rühren einige Zeit der Temperatur überlassen und im Chloroformbade die Erniedrigung festgestellt. Jede Einstellung führt man, um Fehler möglichst zu vermeiden, zweimal aus.

Die Berechnung erfolgt in der auf Seite 361 angegebenen Weise.

Bestimmung der Siedepunktserhöhung.

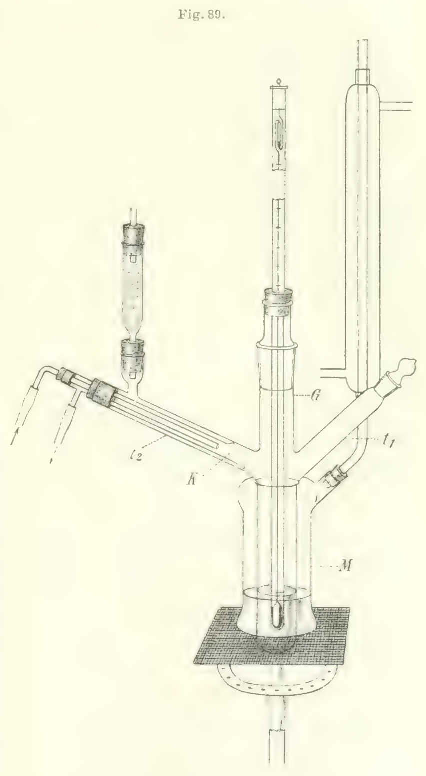
Die ebullioskopische Methode.

Aus Siedepunktserhöhungen läßt sich das Molekulargewicht in analoger Weise ableiten wie aus Erniedrigungen des Gefrierpunktes. Wie der Gefrierpunkt eines Lösungsmittels proportional der Menge gelöster Substanz herabgesetzt wird, wird in gleicher Weise der Dampfdruck eines siedenden Lösungsmittels vermindert. Da die praktische Ausführung der Messung der Dampfdruckverminderung Schwierigkeiten bietet, bestimmt man dieselbe nicht direkt, sondern die der Dampfdruckverminderung proportionale Siedepunktserhöhung. Die Vorzüge dieser sogenannten „ebullioskopischen“ Methode sind gegenüber der kryoskopischen folgende: die Ebullioskopie ermöglicht die Bestimmung der in dem gleichen Lösungsmittel bei niederer Temperatur praktisch unlöslichen oder schwerlöslichen Substanz, sie gestattet ferner die Anwendung des Untersuchungsmaterials in Form gepreßter Tabletten und sie schaltet schließlich das in der Kryoskopie oft beschwerliche Rühren völlig aus. Dazu tritt außerdem der Vorzug, daß hier die Temperaturkonstanz während der Versuchsdauer leichter als bei kryo-

skopischen Versuchen zu erreichen ist. Endlich erfordert die Messung der Siedepunktserhöhung auch weniger Zeit als die der Gefrierpunktserniedrigung.

Ein Nachteil der ebullioskopischen Methode liegt darin, daß sie bei leicht flüchtigen, sowie bei der Siedetemperatur des betreffenden Lösungsmittels unbeständigen Stoffen nicht anwendbar ist.

Fig. 89.



Apparatur zur Siedepunktserhöhung.

Der in neuerer Zeit von *Beckmann* zu ebullioskopischen Bestimmungen vorgeschriebene Apparat ist aus nebenstehender Abbildung (Fig. 89) ersichtlich.

Er besteht aus einem starken Probierrohr G mit den beiden Seitentuben t_1 und t_2. Die Öffnungen bei t_1 und G sind durch Glasschliffe verschlossen. In der Mitte des eingeschliffenen Glasstopfens bei G sitzt in einem Korke das Beckmannthermometer, die Öffnung bei t_1 dient zum Einwurf der Substanz. Schenkel t_2 schließt den Kühler K ein. Die Konstruktion des letzteren ist aus der Zeichnung ersichtlich. Außerdem befindet sich am oberen Teile des Schenkels t_2 ein Chlorkalziumrohr zum Ausschluß der Luftfeuchtigkeit. Der untere Teil des Gefrierrohres G, dessen Länge von der Abzweigung der Seitentuben an gerechnet etwa 16 *cm* betragen soll, sitzt mittelst eines Verschlusses von Asbestpapier fest in einem Siedemantel M, welcher zur Aufnahme der Außenflüssigkeit bestimmt ist. Man wählt den Siedepunkt dieser Flüssigkeit so, daß die durch sie im Siederohr erzeugte Konvergenztemperatur möglichst mit der Temperatur des siedenden Lösungsmittels zusammenfällt. In den Siedemantel wird der Siedeapparat derart eingepaßt, daß sein unterer Teil ungefähr $1^1/_2$ bis 2 *cm* herausragt. Der Mantel steht auf einem Drahtnetz, welches in der Mitte

mit einer kreisrunden Öffnung versehen ist. durch die das aus dem Siedemantel hervorragende Ende des Siederohres reicht. Vor der direkten Flamme ist dasselbe nur durch ein Stück dünnen Asbestpapieres geschützt. Der Siedemantel wird durch einen Ringbrenner, das Siederohr durch einen Bunsenbrenner. dessen Flammenspitze bequem das Asbestpapier erreichen kann. erhitzt. Eine wichtige Aufgabe kommt bei ebullioskopischen Versuchen den Siedeerleichterern — auch Füllmaterial genannt — zu. Man wählt je nach der Natur des angewandten Lösungsmittels Siedeerleichterer aus Platin. Silber, Glas oder Granatsplittern. Aus Platin kommen die Siedeerleichterer in zwei Formen. entweder als sogenannte Platintetraeder oder als massive Platinperlen zur Anwendung. Auch der Gebrauch von zwei Arten Siedeerleichterer (z. B. Platinperlen und Silberperlen) hat sich bei einzelnen Lösungsmitteln vorteilhaft bewährt. Als gebräuchlichstes Füllmaterial gelten die sogenannten Siedegranaten. Es sind dieses Granatsplitter. welche vor ihrer Anwendung einer gründlichen Reinigung und Auslese unterworfen werden müssen. Zu diesem Zwecke kocht man sie einige Zeit in konzentrierter Salzsäure. wäscht sie gut aus und glüht sie bei schwacher Rotglut im Porzellantiegel: dann sucht man sorgfältig mittelst einer Pinzette die besonders großen und schönen Granaten aus. Nur diese kommen als Siedeerleichterer zur Anwendung. Nach Gebrauch sind dieselben in Alkohol zu waschen. im Porzellantiegel zu glühen und im Exsikkator aufzubewahren.

Im Gegensatz zu den Gefrierpunktsbestimmungen sind die Siedepunktsbestimmungen in hohem Maße von Druckschwankungen der äußeren Atmosphäre abhängig. Dieselben können besonders bei langer Versuchsdauer und bei geringen Erhöhungen völlig fehlerhafte Resultate hervorrufen. Es ist daher bei Bestimmungen, welche Anspruch auf Genauigkeit erheben, unbedingt erforderlich. zur Kontrolle der Druckschwankungen in einem zweiten. in gleicher Weise konstruierten Apparat das reine Lösungsmittel während der ganzen Versuchsdauer zu sieden. Die beiden Beckmannthermometer müssen vorher auf ihre Übereinstimmung geprüft sein.

Ausführung der Siedepunktsbestimmung in Wasser als Lösungsmittel.

Wie bei der kryoskopischen Methode soll an Hand dieser Bestimmung die Ausführung der ebullioskopischen erörtert werden.

Bei den Versuchen in Wasser als Lösungsmittel tritt eine besondere Schwierigkeit hinzu. Der Siedeapparat muß für diesen Zweck in allen seinen Teilen außerordentlich gut entfettet sein. Ist dieses nicht der Fall. so zeigt sich während der Bestimmung eine unterschiedliche Benetzung der inneren Gefäßwände. Das Kondensat sammelt sich an den fettreicheren Stellen, von denen es ungleichmäßig abtropft und dadurch eine exakte Thermometereinstellung vereitelt. Um den Apparat völlig zu entfetten. ist es notwendig, denselben in einer genügend großen Porzellanschale vollkommen mit frisch bereiteter Chromschwefelsäure zu übergießen und darin

stundenlang zu erhitzen. Auch der Außenmantel muß sorgfältig entfettet werden.

Die Einstellung des Beckmannthermometers wird in der früher beschriebenen Weise hier in siedendem Wasser bewirkt. Man gibt alsdann in das Siederohr eine etwa 3 *cm* hohe Schicht von Siedegranaten und wägt bis zur ersten Dezimale soviel frisch destilliertes Wasser hinein, bis das untere Quecksilberreservoir des Thermometers von der Flüssigkeit vollkommen umgeben ist. Hierbei hat man darauf zu achten, daß das Quecksilbergefäß nicht mit den Siedegranaten in direkte Berührung kommt, sondern 2 *cm* über dieser Schicht endet. In den Außenmantel gibt man ebenfalls destilliertes Wasser in einer Höhe von 6 bis 8 *cm*, als Siedeerleichterer dienen hier Tonscherben.

Man beginnt den Versuch, indem man mit dem Ringbrenner den Außenmantel vorsichtig anheizt. Sobald die Außenflüssigkeit siedet, erwärmt man mit kleiner Flamme des Bunsenbrenners langsam den unteren, aus dem Drahtnetz hervorragenden Teil des Siederohres. Den Wasserzufluß in beiden Kühlern hat man vorher geregelt, derselbe darf während der ganzen Versuchsdauer keinerlei Änderung erfahren. Allmählich verstärkt man die Flamme des Bunsenbrenners und erhitzt schließlich das dünne, das Siederohr schützende Asbestpapier zur Rotglut. Die Gaszufuhr wird nach der Einstellung des Thermometers geregelt: es muß ein starkes, aber nicht stürmisches Sieden bewirkt werden. Man wird bereits bei der Einstellung durch längere Beobachtung des Quecksilberfadens erkennen können, ob man in dieser Beziehung die richtigen Bedingungen getroffen hat und dieselben bei schwankender Einstellung durch Wärmezufuhr oder Wärmeentziehung korrigieren. Genau wie bei der Kühlung darf an der einmal regulierten Gaszufuhr während der Bestimmungsdauer keinerlei Änderung vorgenommen werden. Hat man so eine einigermaßen konstante Einstellung erzielt, so notiert man dieselbe. Man gibt alsdann durch die Öffnung bei t_1 aus einem trockenen, langen Probierrohr 3 bis 4 Siedegranaten in die siedende Flüssigkeit und verschließt schnell die Öffnung. Der Quecksilberfaden geht zurück, steigt dann wieder an und stellt sich wiederum auf einem neuen, höheren Punkt der Skala ein. 4 Minuten lang beobachtet man unter häufigem Klopfen mit einem Bleistift an die Außenwand des Thermometers, ob der Quecksilberfaden bei der gewählten Einstellung ohne Schwanken verweilt und notiert wiederum dieselbe. Dann gibt man weitere 4 Granaten hinzu, beobachtet und notiert wieder und fährt so fort, bis durch neue Zufuhr von Siedeerleichterern keine neue Einstellung innerhalb $\pm 0{\cdot}001^0$ bewirkt wird. Diese wichtige Operation nennt man die Einstellung des siedenden Lösungsmittels. Dieselbe wird beim Kontrollapparat in gleicher Weise ausgeführt. Während man letzteren nun ruhig sieden läßt, beginnt man im Versuchsapparat mit der eigentlichen Bestimmung. Man notiert sich jetzt die 4 Minuten lang beobachtete, konstante Einstellung der beiden Thermometer sowie die Zeit und gibt die zu bestimmende, vorher abgewogene Substanzmenge in Tablettenform

durch den Seitentubus t_1 in den Apparat. Der Quecksilberfaden geht zurück, steigt dann wiederum an und stellt sich auf einem höheren Punkt der Skala ein. Man beobachtet unter Klopfen, ob der Quecksilberfaden konstant stehen bleibt, und notiert genau nach Verlauf von 4 Minuten nach dem Substanzeinwurf die Einstellung. Zu gleicher Zeit liest man unter Klopfen die augenblickliche Stellung des Quecksilberfadens im Kontrollapparat ab und notiert dieselbe gleichfalls. Dann gibt man eine neue Tablette zu der siedenden Lösung, beobachtet in gleicher Weise und notiert wiederum nach 4 Minuten die Einstellung der beiden Thermometer. In dieser Weise fährt man fort, bis man 4 bis 5 Erhöhungen bestimmt hat.

Berechnung der Versuche.

Die bei den Gefrierpunktsbestimmungen gegebene Formel

$$m = \frac{k . g . 100}{\delta . l} \quad \text{oder} \quad m = \frac{k . \text{konz.}}{\delta}$$

gilt auch hier. Die Buchstaben m, g und l behalten ihre Bedeutung, δ ist die gefundene Siedepunktserhöhung, k ist wiederum eine Konstante, und zwar diejenige Erhöhung, die ein Grammolekül einer beliebigen Substanz in 100 *g* Lösungsmittel hervorruft[1], sie beträgt für Wasser 5·19°. Ihre Ermittelung auf experimentellem Wege erfolgt in analoger Weise wie in der Kryoskopie (vgl. S. 360). Theoretisch läßt sich die ebullioskopische Konstante — in gleicher Weise wie die Gefrierkonstante aus der Schmelzwärme nach *van't Hoff* — aus der Verdampfungswärme nach der Formel von *Beckmann-Arrhenius* ableiten:

$$k = \frac{0{\cdot}02 . T^2}{W}.$$

In dieser Formel bedeutet T die absolute Siedetemperatur, d. h. Siedetemperatur + 273, und W die Verdampfungswärme[2] des Lösungsmittels. Auch hier kann man die Siedepunktserhöhung eines Stoffes von bekannter Molekulargröße umgekehrt zur Berechnung der Verdampfungswärme benutzen. Eine zweite theoretische Ermittelung gestattet die Formel von *Trouton-Schiff*

$$k = 0{\cdot}00096 . T . M.$$

T ist auch hier die absolute Siedetemperatur und M das Molekulargewicht des Lösungsmittels. Nach neueren Beobachtungen *Beckmanns* ist jedoch die *Trouton*sche Formel — im Gegensatz zur *Beckmann-Arrhenius*-Formel — nicht in allen Fällen brauchbar.

Bei der Berechnung des Molekulargewichtes aus den gefundenen Erhöhungen verfährt man genau nach der im kryoskopischen Teil gegebenen

[1]) Über Dissoziations- und Assoziationsgrad siehe Bd. 1, S. 505; ebenda, Leitfähigkeitsmessungen, S. 485.

[2]) *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen. Verzeichnis der Verdampfungswärmen.

Vorschrift. Als Korrektur für den Verlust des Lösungsmittels l, welcher während des Siedens teils als Dampf, teils als herabrieselnde Flüssigkeit im Kühler enthalten ist, werden bei Wasser 0·3—0·35 *g* in Abzug gebracht. Auch hier soll die nachstehende Versuchsreihe als Beispiel dienen:

Ebullioskopische Bestimmung von Harnstoff in Wasser.
$k = 5{\cdot}19^0$.

Menge d. angewandten Wassers in Gramm (l)	Gramm Harnstoff, Einzelmengen addiert (g)	Gramm Harnstoff in 100 *g* Wasser $\left(\frac{g \cdot 100}{l} = \text{konz.}\right)$	Abgelesene Erhöhungen, Einzelwerte addiert	Korrektur aus dem Druck	Gesamterhöhung mit Korrektur, Einzelwerte addiert (δ)	Gefundenes Molekulargewicht	Berechnetes Molekulargewicht
22·3 [1]	0·6302	2·826	0·247	+ 0·001	0·248	59·1	60·11
	(+ 0·8001)		(+ 0·307)				
22·3	1·4303	6·563	0·554	+ 0·011	0·565	60·3	—
	(+ 0·7523)		(+ 0·310)				
22·3	2·1826	9·787	0·864	± 0·000	0·864	58·8	—
	(+ 0·5820)		(+ 0·192)				
22·3	2·7646	12·400	1·056	+ 0·002	1·058	60·8	—

Mittelwert des gefundenen Molekulargewichtes = 59·75.

Siedepunktsbestimmungen in Lösungsmitteln mit niedrigerem und höherem Siedepunkt als Wasser.

Als gebräuchlichere Lösungsmittel verdienen vor allem die nachstehend aufgeführten Berücksichtigung:

	Ebullioskopische Konstante	Siedepunkt
Äthyläther	21·1° [2]	35°
Schwefelkohlenstoff .	23·7°	46°
Azeton	16·7°	56°
Chloroform	36·6°	61°
Äthylalkohol . . .	11·5°	78°
Tetrachlorkohlenstoff	47·9°	78·1°
Benzol	26·1°	80°
Toluol	29·4°	111°
Essigsäure	30·75° [2]	118°
Phenol	30·4°	132°
Anilin	32·2°	182°
Nitrobenzol	50·2°	207°

Die ebullioskopischen Bestimmungen in diesen Lösungsmitteln werden in der gleichen Weise wie in Wasser ausgeführt. Apparatur und Arbeitsmethode sind

[1]) 22·6 *g* Wasser abgewogen, Korrektur minus 0·3 *g*.
[2]) Wird am besten für jedes Präparat neu bestimmt.

dieselben. Zur Erzielung der richtigen Konvergenztemperatur ist es zweckmäßig, im Außenmantel das Lösungsmittel selbst zu sieden. Kommt als Lösungsmittel eine kostbare Substanz zur Anwendung, so wird man naturgemäß als Außenflüssigkeit einen anderen Körper mit möglichst gleichem Siedepunkt wählen. Bei niedrig siedenden Lösungsmitteln genügt zur Erzielung richtiger Resultate der Gebrauch eines gewöhnlichen Luftmantels.[1]) Im allgemeinen hat man in der Ebullioskopie der Außentemperatur innerhalb gewisser Grenzen keinen großen Einfluß auf die zu erzielenden Werte zuzuschreiben — d. h. es ist völlig belanglos, ob bei Siedepunktsbestimmungen, beispielsweise in Benzol, im Außenmantel eine Flüssigkeit z. B. bei 60° oder 80° siedet —, wichtig dagegen ist es, daß die einmal gewählte Außentemperatur keinerlei Änderung oder auch nur Schwankung während der Versuchsdauer unterworfen ist. Auch darf der Mantel nicht so hoch geheizt werden, daß er als Heizquelle für den Siederohrinhalt wirken kann. Eine bei ebullioskopischen Bestimmungen häufig beobachtete Unregelmäßigkeit besteht darin, daß das Lösungsmittel, welches allein ruhig und gleichmäßig siedet, plötzlich nach Einwurf der Substanz ein starkes Schäumen zeigt. Es beruht dieses darauf, daß beim Sieden Dampf und Flüssigkeit eine mehr oder minder unterschiedliche Temperatur besitzen. Nimmt die Zahl der Dampfblasen stark zu, so verschwindet diese Temperaturdifferenz infolge inniger Berührung von Dampf und Flüssigkeit. Nur durch richtige Anwendung von Füllmaterial — wie es im vorigen Abschnitt bei der Einstellung des Lösungsmittels beschrieben ist — wird diese Unregelmäßigkeit in befriedigender Weise beseitigt. Als Korrektur des Lösungsmittels, welches sich während des Siedens als Dampf im Siederohr befindet, werden durchschnittlich 0·2 *g* — bei Wasser 0·3—0·35 *g* — in Abzug gebracht.

Schließlich sind noch einige Worte über die Korrektion der durch Änderung des Atmosphärendrucks hervorgerufenen Fehler zu sagen. Dieselben können — wie bereits in den vorhergehenden Abschnitten bemerkt — bei Bestimmungen, welche infolge langsamer Löslichkeit des Untersuchungsmaterials eine längere Versuchsdauer beanspruchen, sowie bei Anwendung hochmolekularer Substanzen mit kleinen Erhöhungen erhebliche sein. In diesen Fällen ist es daher immer notwendig, zur Kontrolle in einem zweiten Apparat das reine Lösungsmittel zu sieden. Bei Substanzen, die nicht zu langsam löslich sind und Erhöhungen von 0·2° und darüber geben, erscheinen die Fehler aus atmosphärischen Druckänderungen weniger bedenklich. Es genügt gewöhnlich, derartige Bestimmungen bei beständigerem Wetter auszuführen, besonders vormittags, wo auch der Gasdruck am konstantesten zu sein pflegt.

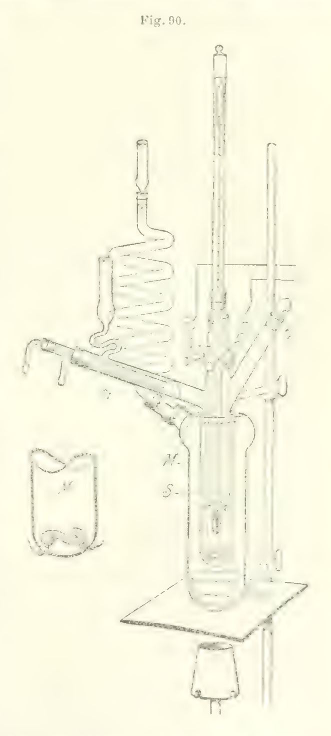
Der von *Richard Meyer* vorgeschlagene Ersatz des Kontrollapparates durch ein empfindliches Aneroidbarometer hat sich nach *Beckmann* nicht bewährt.

[1]) Vgl. Bd. 1, S. 505, Fig. 527.

Ebullioskopische Bestimmungen in Siedeapparaten mit elektrischer Heizung.

In neuerer Zeit finden Siedeapparate mit elektrischer Heizvorrichtung eine derartig weitgehende Anwendung, daß ihre Erwähnung an dieser Stelle unerläßlich erscheint. Nachdem *Bigelow* als erster Versuche mit elektrischer Innenheizung ausgeführt hat, präzisierte *Beckmann* diese Arbeitsmethode und machte sie für exakte Bestimmungen anwendbar. (Die Konstruktion des von ihm vorgeschriebenen, elektrisch geheizten Siedeapparates ist aus nebenstehender Zeichnung ersichtlich, s. Fig. 90).

Fig. 90.



Derselbe besteht aus dem Siederohr *S* mit den beiden Tuben t_1 und t_2. Der Tubus t_1 ist mit innerem Kühler und Chlorkalziumrohr versehen, die Öffnung des etwas steiler angesetzten Tubus t_2 dient zum Einführen der Substanz. Im Boden des Siederohres sind zwei Platindrähte eingeschmolzen, welche zum inneren Heizdraht führen. Letzterer besteht aus einem Platindraht von 0·1 *mm* Durchmesser und 20 *cm* Länge und ist um einen S-förmig gebogenen Glasstab von etwa 3 *mm* Durchmesser gewickelt (in der Fig. 90 links ist diese Anordnung besonders gekennzeichnet). Die Heizspirale steht durch dünne, an der Außenseite des Siederohres verlaufende, isolierte Kupferdrähte mit zwei am Hals des Apparates angebrachten Klemmschrauben in Verbindung. Das Siederohr ist von dem Dampfmantel *M*, dessen Konstruktion bereits in einem früheren Abschnitt (vgl. S. 362) beschrieben ist, umgeben. Bei den angegebenen Dimensionen des Heizdrahtes muß die Spannung der Stromquelle mindestens 10 Volt betragen. Ein kleiner Widerstand *W* von etwa 10 Ohm gestattet nach Belieben zu regulieren. Bei Verwendung von Straßenstrom (Gleichstrom) schaltet man zweckmäßig einen Kohlenfaden-Glühlampenwiderstand ein, und zwar dienen bei einer Netzspannung von 110 Volt zur Heizung mit 1·5 Ampère zwei parallel geschaltete 32-Kerzenlampen oder vier 16-Kerzenlampen, zur Heizung mit 2 Ampère drei 32-Kerzenlampen oder sechs 16-Kerzenlampen. Außer dem Lampenwiderstand schaltet man zwischen Stromquelle und Klemm-

schrauben des Siederohres einen kleinen Regulierwiderstand sowie ein Ampèremeter.

Um ein übermäßiges elektrisches Heizen von vornherein zu vermeiden, verfährt man bei der Einstellung des Heizstromes folgendermaßen: Der Versuchsapparat wird mit dem Lösungsmittel ohne Anwendung von Siedegranaten bei niedriger Stromstärke (1 Ampère) angeheizt. Allmählich verstärkt man den Strom um je 0·1 Ampère bis zu dem Punkte, bei welchem an der ganzen Heizspirale Gasbläschen aufsteigen. Alsdann erhöht man die Stromstärke nochmals um 0·1 bis 0·2 Ampère, gibt in der bekannten Weise bis zur exakten Einstellung des Thermometers Siedegranaten hinzu und beginnt mit der Bestimmung.

Der Vorteil der elektrischen Heizung liegt darin, daß man mit Hilfe derselben außerordentlich schnell zu einer konstanten Einstellung gelangt. Die Wärmezufuhr durch den elektrischen Strom ist eine gleichmäßigere als bei der Gasheizung. Arbeitet man mit einem in gleicher Weise konstruierten Kontrollapparat, so wird man auch bei kleinen Erhöhungen — also bei Körpern mit großem Molekulargewicht — sowie bei langer, durch Schwerlöslichkeit der Substanz hervorgerufener Versuchsdauer zu unbedingt sicheren Resultaten gelangen. Die Schwierigkeit der Handhabung der elektrischen Apparatur ist keineswegs groß und wird auch dem Ungeübten nach kurzer Zeit geläufig sein. Es ist eine Erfahrungstatsache, daß in der Ebullioskopie die Heizung mit elektrischem Strom der Gasheizung aus mehr als einem Grunde vorzuziehen ist. Für denjenigen Biochemiker, welcher zum erstenmal in die Lage kommt, ebullioskopische Bestimmungen ausführen zu müssen, ist es nach diesseitiger Ansicht leichter, sich direkt in die Siedemethode mit elektrischer Heizung einzuführen, als den am einfachen Apparat durch Gasheizung hervorgerufenen Schwierigkeiten sachgemäß zu begegnen.

Beckmann hat in letzter Zeit gezeigt, daß man an Stelle von Gleichstrom ebensogut Wechselstrom, selbst von großer Wechselzahl, zu ebullioskopischen Bestimmungen benutzen kann. Es ist dies insofern wichtig, als ein rasch alternierender Wechselstrom auch die Untersuchung von Elektrolyten gestattet.

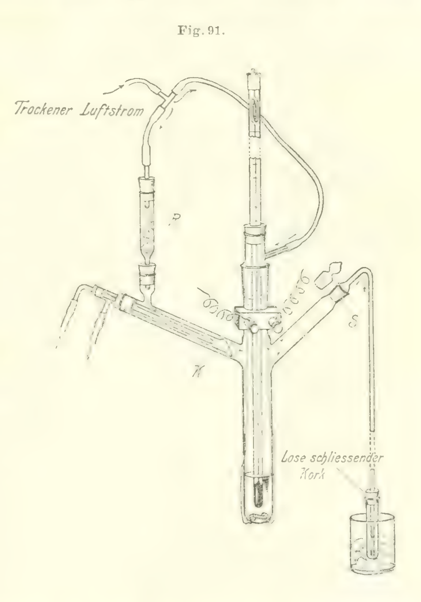
Ebullioskopische Bestimmungen in Siedepunktsapparaten mit Abdestillationsvorrichtung.

Bei einigen Lösungsmitteln, wie Chloroform, Eisessig, Phenol, Benzol u. a., hat sich gezeigt, daß die Einstellung der Siedetemperatur unsicher wird, sobald diese Lösungsmittel die geringsten Spuren von Wasser enthalten. Die aufdestillierenden Dämpfe führen das Wasser mit sich, welches sich in den kälteren Teilen des Siederohres, besonders am Kühler, unter Auftreten von Trübungen kondensiert. Gleichzeitig beobachtet man ein

langsames Steigen des Siedepunktes. Sobald nun aber ein Tropfen wasserhaltigen Kondensates zurückfließt, hat dieses ein vorübergehendes Fallen des Quecksilberfadens zur Folge. Derartige störende Erscheinungen hat man bei den obengenannten Lösungsmitteln häufig beobachtet und dadurch eine Beseitigung angestrebt, daß man das getrocknete Lösungsmittel direkt in den Siedeapparat destillierte. Endgültig hat *Beckmann* diese Nachteile durch den in Fig. 91 wiedergegebenen Apparat beseitigt.

Die Abbildung zeigt uns den im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Siedeapparat mit elektrischer Heizung, welcher jedoch am Schliffstück des Thermometertubus ein Kapillarröhrchen zum Einleiten trockener Luft aufweist. Die Öffnung des Tubus S besitzt außer seinem eingeschliffenen Glasstopfen ein dem Schliff angepaßtes Glasrohr zum Abdestillieren. Der Glasschliff am Thermometertubus liegt so hoch über der Kondensationsstelle des Kühlers, daß das Kondensat nur spärlich dorthin gelangt. Ebenso kommt die Schliffstelle am Tubus S nur während des Abdestillierens mit Flüssigkeit in Berührung und ist während des eigentlichen Versuches vom Kondensat frei. Fig. 92 zeigt uns die gesamte Apparatur mit Siedemänteln, Kontrollapparat und elektrischer Heizung. Der elektrische Strom geht von der Stromquelle über Lampenwiderstand und Regulierwiderstand in das Siederohr des ersten Apparates, von da in den zweiten und über das Ampèremeter zur Stromquelle zurück. Beide Apparate werden demnach aus einer Stromquelle geheizt.

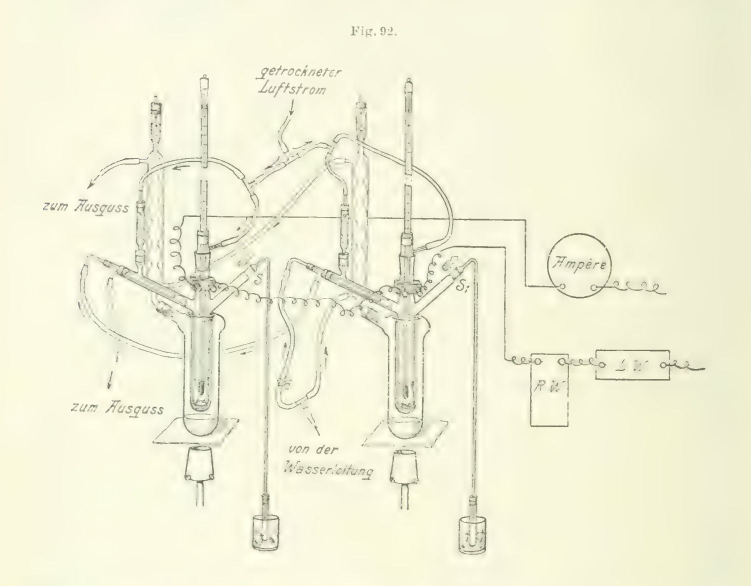
Fig. 91.



Zum Versuch gibt man in das Siederohr zirka $^1/_3$ bis $^1/_2$ mehr Lösungsmittel als später zur eigentlichen Bestimmung dienen soll. Mit dem gleichen Lösungsmittel ist auch der Außenmantel beschickt. Man bringt die Flüssigkeit im Dampfmantel durch Gasheizung, im Siederohr durch elektrische Heizung zum Sieden und preßt einen ständigen Strom von trockener Luft mittelst T-Rohres einerseits nach dem Chlorkalziumrohr

R_1 andrerseits nach dem Schlifftubus des Siederohres. Der Innenkühler K ist zunächst noch trocken und nicht mit fließendem Wasser gespeist. Die mittelst einer Wasserstrahldruckpumpe im gleichmäßigen Strome durchgepreßte, vorher durch Chlorkalziumrohre getrocknete Luft gelangt mit den Dämpfen des abdestillierenden Lösungsmittels in das vorgelegte, gekühlte Reagenzrohr, worin sich der größte Teil der Dämpfe verdichtet. Der Luftstrom sorgt dafür, daß sich in keinem oberen Teile des Appa-

Fig. 92.



rates Feuchtigkeit oder sonstige Beimischung des Lösungsmittels niederschlägt.

Hat man auf diese Art genügend Lösungsmittel abdestilliert, so werden die Öffnungen am Chlorkalziumrohr und am Thermometertubus verschlossen resp. abgeklemmt, und das Abdestillierrohr durch den Verschlußstöpsel ersetzt. Beschickt man jetzt den Innenkühler K mit fließendem Wasser, so darf sich ein Beschlag von Feuchtigkeit nicht mehr zeigen. Bei niedrig siedenden Lösungsmitteln, wie Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzol usw., dauert das Abdestillieren 15 Minuten. Bei Lösungsmitteln über 100° kann man vom Abdestillieren einer größeren Menge absehen: es genügt meist, während längeren Siedens trockene Luft durch den Apparat zu schicken. Beim Kontrollapparat verfährt man, wie aus Fig. 92 ersichtlich, gleichzeitig in gleicher Weise.

Nach dem Abdestillieren muß das Thermometer eine völlig konstante, d. h. nur um ± 0·001 schwankende Einstellung zeigen. Da während der Destillation bereits Temperaturausgleich stattgefunden hat, erfolgt die Thermometereinstellung in diesem Falle außerordentlich schnell. Das Lösungsmittel wird nach dem Erkalten des Apparates und nach Entfernung von Thermometer, Chlorkalziumrohr und Kühler durch Wägung ermittelt, wobei außer dem Gewicht des Siederohres und Füllmaterials auch die gelöste Gesamtsubstanz in Abzug zu bringen ist. Schließlich mag noch erwähnt werden, was eigentlich selbstverständlich ist, daß auch die zu bestimmende Substanz vor ihrer Anwendung weder Feuchtigkeit, noch andere leicht abfraktionierende Stoffe, vom Umkristallisieren herrührend, wie Alkohol, Benzol usw. enthalten darf, da hierdurch der Wert der ganzen obigen Arbeit illusorisch würde.

Ergänzungen zur Aschenanalyse.

Von **Rudolf Hanslian,** Halle a. S.

Die Bestimmung des Eisens in einer Säuregemischasche.

Zur Erlangung einer größeren Genauigkeit bei der Bestimmung des Eisens, welches man aus organischen Substanzen auf dem Wege der feuchten Veraschung nach *Neumann* erhalten hat, müssen folgende Gesichtspunkte berücksichtigt werden:

Bei allen jodometrischen Bestimmungen, mit Stärke als Indikator, spielt die Empfindlichkeit der Stärkereaktion eine große Rolle. Die Entstehung der Blaufärbung ist nicht nur von der Anwesenheit des Jodids, sondern auch in hohem Maße von der Konzentration der Jodidlösung abhängig. *Treadwell*[1]) hat gezeigt, daß bei gleichen Jodidmengen und verschiedenem Flüssigkeitsvolumen bei Anwendung von $\frac{n}{100}$-Lösung ganz enorme Fehler bei der Titration entstehen können. Es ist daher bei der *Neumann*schen Eisenbestimmung in Anbetracht der Verwendung von etwa $\frac{n}{250}$-Lösungen eine weitgehende Berücksichtigung dieser Fehlerquelle unbedingt erforderlich.

Aber nicht nur die Konzentration der Jodidlösung, sondern auch die durch Anwesenheit von anderen anorganischen Salzen — wie NH_4Cl, $NaCl$ — bedingte Konzentrationsänderung kann Anlaß zu fehlerhaften Resultaten sein, wie eigene Beobachtungen gezeigt haben.[2]) Es geht daraus hervor, daß man bei der Analyse, so weit als möglich, für gleiche Konzentration wie bei der Titerstellung sorgen muß.

Eine weitere Berücksichtigung bei jodometrischen Bestimmungen verdient die Oxydationsfähigkeit des Sauerstoffs der Luft. *Neumann* gibt an, daß man die zu titrierende Flüssigkeit auf 50 bis 60° erwärmt, bis zum

---

[1]) *Treadwell,* Lehrbuch der analytischen Chemie. Bd. 2. S. 502 (1907).

[2]) So verbrauchten beispielsweise 0·004 *g* Fe, als Chlorid in 50 *cm*³ Wasser, im Durchschnitt 16·9 *cm*³ Natriumthiosulfat, dieselbe Eisenlösung, enthaltend 10 *g* Ammonchlorid, bei gleicher Temperatur 17·28 *cm*³ als Mittelwerte.

Verschwinden der Blaufärbung über rotviolett titriert und 5 Minuten auf eine Nachbläuung wartet. Eigene Versuche nach dieser Vorschrift haben einen nicht unerheblichen Mehrverbrauch von Natriumthiosulfat, als der vorhandenen Eisenmenge entsprach, ergeben.

Vermeidet man die obigen Fehlerquellen durch Befolgung der nachstehenden Methoden, so kommt man mit Hilfe der *Neumann*schen Eisenbestimmung auf verhältnismäßig raschem Wege zu gut stimmenden Resultaten, vorausgesetzt, daß man sich streng an die von *Neumann* gegebenen Vorschriften über die Mengen des auf einmal zu bestimmenden Eisens hält. Auf keinen Fall ist es zulässig, mehr als 20 cm^3 Zinkphosphatlösung zur Fällung zu verwenden. Zeigt das Filtrat trotz wiederholtem, längeren Kochen noch ungefälltes Eisen, so ist man gezwungen, in verdünnterer Lösung neue Fällungen vorzunehmen.

Isolierung des Eisens aus dem Säuregemisch.

Zur Vermeidung der oben genannten Fehler hat sich folgendes Verfahren als geeignet erwiesen:

Man gießt nach völliger Veraschung [1]) das eisenhaltige Säuregemisch [2]) aus dem Jenenser Rundkolben in ein Becherglas, welches das dreifache Volumen destillierten Wassers enthält, und kocht etwa 10 Minuten lang bis zum Verschwinden der durch Zersetzung der Nitrosylschwefelsäure entstandenen braunen Dämpfe. Die Aschenlösung gibt man danach in den Rundkolben zurück, fügt aus einer Pipette 20 cm^3 Zinkphosphatlösung [3]) hinzu und versetzt unter starker Kühlung vorsichtig mit Ammoniak, bis der weiße Zinkphosphatniederschlag gerade bestehen bleibt. Man setzt weiter geringe Ammoniakmengen genau bis zur Lösung des Niederschlages zu und erhitzt nun auf einem Asbestdrahtnetz in einem geräumigen, schräg liegenden Rundkolben mit starker Flamme 20 Minuten lang zum heftigen Sieden. Ein Verspritzen der Flüssigkeit ist hierbei nicht zu befürchten. Den entstandenen Niederschlag läßt man einen Augenblick absetzen und gießt alsdann die überstehende, noch heiße Flüssigkeit, ohne den Niederschlag aufzurühren, durch ein glatt anliegendes Filter von 3 bis 4 cm Radius. Das Filtrat darf mit Rhodankali und Salzsäure keine Rötung geben. Ist dieses dennoch der Fall, so muß man das Filtrat in den Kolben zurückgeben, die Flüssigkeit noch weitere 20 Minuten erhitzen und danach nochmals prüfen. Kolben und Filter wäscht man mit destilliertem Wasser solange aus, bis 5 cm^3 des Filtrats mit einigen Kristallen Jodkalium und einem Tropfen Salzsäure Stärke nicht bläuen und gibt zu dem im Rund-

[1]) Vgl. darüber Bd. 1. S. 386.

[2]) Der geringe Eisengehalt, den auch die als purissimum gelieferten Säuren des Säuregemisches besitzen, kann im allgemeinen vernachlässigt werden. Durchschnittlich enthält 1 *l* Schwefelsäure puriss. Kahlbaum 0·0001 *g* Fe und 1 *l* Salpetersäure 0·00017 *g* Fe. Vgl. darüber auch *Jahn, Hoppe-Seyler*s Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 75. S. 310, 1911.

[3]) Bd. 1. S. 414.

kolben befindlichen Niederschlag mittelst einer Pipette 20 cm^3 konzentrierte Salzsäure. Durch vorsichtiges Schwenken des Kolbens löst man den darin befindlichen Teil des Niederschlages auf. Das Filter mit Niederschlag trennt man quantitativ vom Trichter, bringt es in eine kleine, mit Ausguß versehene Glas- oder Porzellanschale und gibt die im Kolben befindliche, stark salzsaure Lösung unverdünnt hinzu. Das ganze digeriert man mit einem Glasstabe 10 Minuten lang auf dem Wasserbade, verdünnt dann etwa mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers, mit welchem man zuvor den Rundkolben ausgespült hat, und filtriert durch ein glattes Filter in einen 250 cm^3-Maßkolben mit eingeschliffenem Stopfen. Kolben und Filter wäscht man so lange mit heißem, destillierten Wasser aus, bis das ablaufende Filtrat mit Rhodankalium und Salzsäure keine Rötung mehr gibt. Es hat sich gezeigt, daß sich sämtliches Eisen im Maßkolben befindet, wenn das gesamte Filtrat etwa 200 cm^3 beträgt. Man neutralisiert sofort den größten Teil der freien Salzsäure durch Natronlauge, und zwar setzt man soviel Alkali hinzu, bis die ersten Spuren einer Trübung durch den ausfallenden Zinkphosphatniederschlag auftreten. Durch 2 bis 3 Tropfen verdünnter Salzsäure bringt man die Spuren wiederum in Lösung und füllt bei Zimmertemperatur auf 250 cm^3 auf.

Titration des Eisens.

In aliquoten Teilen der so erhaltenen Eisenlösung bestimmt man das Eisen.

Man pipettiert je 50 cm^3 in einen mit eingeschliffenem Stopfen versehenen 100 cm^3-Kolben und gibt 5 cm^3 Stärkelösung hinzu. Dann verdrängt man durch längeres Einleiten von Kohlensäure die Luft völlig aus Kolben und Flüssigkeit, setzt 3 *g* Jodkalium hinzu, verschließt die Flasche, schüttelt und läßt 20 Minuten bei Zimmertemperatur stehen. Nach Ablauf dieser Zeit titriert man das ausgeschiedene Jod mit Natriumthiosulfatlösung zurück. Sobald die Blaufärbung über rotviolett verschwunden ist, leitet man wiederum — diesmal kürzere Zeit — Kohlensäure ein, verschließt und beobachtet, ob nach 2 bis 3 Minuten eine Nachbläuung eintritt. Zeigt sich eine solche, so entfärbt man durch weiteren Zusatz von Natriumthiosulfat. Tritt wiederholt nach der Entfärbung Bläuung ein, so gibt man bei der Titration eines zweiten Teils der Lösung 5 *g* Jodkalium hinzu und führt damit die Bestimmung aus. In den meisten Fällen werden hier 3 *g* völlig genügen. Bei Anwesenheit von nur geringen Mengen freier Salzsäure ist die Reaktion bei gewöhnlicher Temperatur nach 20 Minuten sicher beendet. Den berechneten Durchschnittswert aus den erhaltenen Bestimmungen hat man mit fünf zu multiplizieren.

Titerstellung der Natriumthiosulfatlösung.

Es ist oben gesagt worden, daß man bei der Analyse, soweit als möglich, für dieselben Konzentrationsbedingungen wie bei der Titerstellung

Sorge tragen muß. Da die Konzentration der zu bestimmenden Eisenlösung durch den Verlauf des oben beschriebenen Analysenganges bedingt wird, ist es am zweckmäßigsten, beim Einstellen der Natriumthiosulfatlösung gegen die Eisenchloridlösung von bekanntem Gehalt gleiche Bedingungen wie bei der Analyse zu schaffen.

Man hätte demnach folgendermaßen zu verfahren: 20 *cm*³ der verdünnten *Kahlbaum*schen Eisenlösung[1]), enthaltend also 0·004 *g* Fe, werden in einem verschließbaren 100 *cm*³-Maßkolben mit 17 *cm*³ destilliertem Wasser versetzt. Dazu gibt man 4 *cm*³ konzentrierte Salzsäure, welche man mit Natronlauge — Lackmuspapier als Indikator — wiederum neutralisiert. Vereinfachen läßt sich der Vorgang, wenn man an Stelle von Salzsäure und Natronlauge direkt eine äquivalente Menge Kochsalz nimmt. Die zu titrierende Flüssigkeit besteht alsdann aus 20 *cm*³ Eisenlösung, 30 *cm*³ destilliertem Wasser und 1·7 *g* Natriumchlorid.[2]) Nach Zusatz von 5 *cm*³ Stärkelösung, Einleiten von Kohlensäure sowie Zugabe von 3 *g* Jodkalium verfährt man genau wie bei der Analyse.

Die gravimetrische Bestimmung des Kalziums in einer Säuregemischasche.

Die durch vorschriftsmäßige Veraschung hellgelb gefärbte, völlig klare Aschenlösung wird nach dem Erkalten aus dem Rundkolben in ein geräumiges, mit Ausguß versehenes Jenenser Becherglas, welches ein der Lösung gleich großes Volumen destillierten Wassers enthält, in dünnem Strahl vorsichtig eingegossen. Schon beim Eingießen zeigt sich eine reichliche Entwicklung von Stickoxyddämpfen. Um die Heftigkeit der Reaktion zu mindern, ist es ratsam, das Becherglas bei dieser Prozedur in Eis zu stellen. Ein gleiches Volumen Wasser verwendet man in zwei Portionen zum Ausspülen des Rundkolbens und vereint die Flüssigkeitsmengen. Zum völligen Vertreiben der Stickoxyddämpfe erhitzt man das Ganze 10 Minuten lang auf einem Asbestdrahtnetz zum Sieden. Alsdann läßt man erkalten und überzeugt sich, daß in der Lösung keine aus der Asche stammenden, ungelösten Substanzmengen — beispielsweise Kieselsäure — vorhanden sind. Ist dieses der Fall, so filtriert man die Flüssigkeit. Nun gibt man zu der Lösung das 4fache Volumen 96⁰/₀igen Alkohols und rührt sorgfältig um. Nach 12stündigem Stehen in der Kälte filtriert man durch ein glattes Filter ab und wäscht mit 70⁰/₀igem Alkohol vollständig aus. Man trocknet Trichter mit Inhalt im Thermostaten, trennt Niederschlag vom Filter, verascht letzteres im Platintiegel und fügt die Hauptmenge des Niederschlages hinzu. Alsdann löst man den ganzen Rückstand im Platintiegel

[1]) Bd. 1, S. 414.

[2]) Berechnet auf HCl vom spez. Gew. 1·124.

auf dem Wasserbade wiederum in wenig Säuregemisch, — die Anwendung von Salzsäure ist völlig zu vermeiden — spült die Lösung mit wenig destilliertem Wasser in ein Becherglas und kocht. Zur erkalteten Flüssigkeit gibt man 4 Volumen Alkohol, läßt 12 Stunden stehen, filtriert, wäscht aus und trocknet nach obiger Vorschrift. Den Niederschlag bringt man in einen gewogenen Platintiegel, äschert das Filter in der Platinspirale ein, fügt die Asche zur Hauptmenge und glüht bei Dunkelrotglut[1]) des Platintiegels im Bunsenbrenner bis zur Konstanz.

Ebenso zweckmäßig läßt sich das Kalzium des zum ersten Male gefällten Kalziumsulfatniederschlages als Kalk (CaO) bestimmen. Wählt man diese Methode, so digeriert man den im Platintiegel befindlichen Niederschlag auf dem Wasserbade mit konzentrierter Salzsäure bis zur völligen Lösung, spült den Inhalt mittelst destillierten Wassers in ein Becherglas und versetzt mit Ammoniak bis zur neutralen oder schwach ammoniakalischen Reaktion. Die Lösung erhitzt man zum Sieden und fällt das Kalzium mit einer siedenden Lösung von Ammonoxalat als Kalziumoxalat. Nach einigem Stehen scheidet sich der Niederschlag grob kristallinisch ab. Man prüft durch erneuten Zusatz von Ammonoxalat auf vollständige Fällung. Nach 6 bis 12stündigem Stehen gießt man die klare, überstehende Flüssigkeit vorsichtig, ohne den Niederschlag aufzurühren, durch ein quantitatives Filter, digeriert den Niederschlag dreimal mit warmem, ammonoxalathaltigen Wasser — in destilliertem Wasser ist er löslich — bringt ihn dann auf das Filter und wäscht ihn daselbst bis zum Verschwinden der Chlorreaktion mit heißem, ammonoxalathaltigen Wasser aus. Filter mit Inhalt trocknet man zur Entfernung der Hauptmenge Feuchtigkeit im Thermostaten, bringt beide zusammen in einen Platintiegel und verbrennt naß. Man muß hierbei außerordentlich vorsichtig und langsam verfahren, damit nicht durch zu rasche Entwicklung von Kohlenmonoxyd Verluste entstehen. Nachdem das Filter verbrannt ist, bedeckt man den Tiegel, erhitzt kräftig über dem Teclubrenner und schließlich 20 Minuten lang vor dem Gebläse. Nach dem Glühen stellt man den noch heißen Platintiegel neben ein offenes Wägeglas in einen Vakuumexsikkator, dessen seitliche Öffnung durch ein U-Rohr, den äußeren Schenkel mit Natronkalk, den inneren mit Chlorkalzium beschickt, verschlossen ist, und läßt darin eine Stunde lang erkalten. Beim Abkühlen strömt die kohlensäurefreie und trockene Luft von außen in den Exsikkator. Man stellt den Tiegel nun in das Wägegläschen, bedeckt rasch, läßt $1/2$ Stunde lang neben der Wage an der Luft stehen und wägt. Alsdann glüht man den Tiegel von neuem 10 Minuten lang vor dem Gebläse, läßt in gleicher Weise erkalten und wägt wieder. Man fährt so fort, bis man konstante Werte erhalten hat.

---

[1]) $CaSO_4$ ist beim Erhitzen im Teclubrenner oder vor dem Gebläse nicht unbeträchtlich flüchtig. Vgl. *Treadwell*, Lehrbuch der analytischen Chemie. Bd. 2. S. 61 (1907).

Die Trennung und Bestimmung von Kalzium, Magnesium und Phosphorsäure in einer Säuregemischasche.

Die Bestimmung dieser in der Asche tierischer wie pflanzlicher Stoffe fast immer nebeneinander vorkommenden drei Substanzen soll hier besonders erörtert werden.

Es ist nicht ratsam, die Bestimmung in der Art auszuführen, daß man die Lösung teilt und in dem einen Teil das Kalzium und Magnesium, in dem anderen die Phosphorsäure allein bestimmt. Bei dieser Arbeitsmethode ist man um nichts gebessert, da die vorhandene Phosphorsäure die Trennung von Kalzium und Magnesium stört. Die sehr exakte Oxalatmethode von *Richards*[1]) läßt sich nur bei Abwesenheit von Phosphorsäure ausführen, da das Magnesium neben dem Kalziumoxalat als Ammoniummagnesiumphosphat ausfällt und durch überschüssiges Ammonoxalat nicht gelöst wird. Ebensowenig vorteilhaft ist es, vorher die Phosphorsäure mit Ammonmolybdänat zu fällen, um danach die Trennung von *Richards* ausführen zu können, da wiederum die Entfernung des überschüssigen Molybdäns zeitraubend ist. Man verfährt am besten folgendermaßen:

Nach völliger Veraschung, die man mit möglichst geringen Mengen Säuregemisch ausgeführt hat, bestimmt man zuerst das Kalzium als Sulfat in der im vorhergehenden Abschnitt angegebenen Weise, und zwar fällt man bei dieser Trennung das Kalzium auch zum zweitenmal als Kalziumsulfat und nicht als Kalziumoxalat. Die beiden alkoholhaltigen Filtrate vereinigt man und entfernt durch Abdestillieren im Vakuum den Alkohol vollkommen. Bei diesem Vorgang nimmt die zurückbleibende, wässerige Lösung eine dunkelbraune Farbe an. Zur Entfernung derselben gibt man in der Kälte vorsichtig etwas Säuregemisch hinzu und erhitzt die Lösung zum Sieden. Sobald die dunkle Färbung in hellgelbe umgeschlagen ist, kühlt man Kolben mit Inhalt sorgfältig in Eiswasser, versetzt mit Ammoniak bis zur neutralen oder schwach ammoniakalischen Reaktion, fügt reichliche Mengen einer filtrierten Ammonchloridlösung hinzu und macht die Lösung mit Salzsäure wiederum deutlich sauer. Nun bringt man dieselbe quantitativ in einen Maßkolben, füllt mit Wasser auf ein bestimmtes Volumen auf und teilt die Flüssigkeit in zwei gleiche Teile. In der einen Hälfte bestimmt man das Magnesium als Magnesiumpyrophosphat, in der anderen die Phosphorsäure gleichfalls als Magnesiumpyrophosphat.

Zur Bestimmung des Magnesiums gibt man zu einem Teil der Lösung einen Überschuß von Natrium- oder Ammoniumphosphat, erhitzt zum Sieden und versetzt die heiße Lösung sofort mit $^1/_3$ ihres Volumens an 10%, Ammoniak. Nach 2 bis 3stündigem Stehen in der Kälte filtriert man durch ein glattes Filter, wäscht mit $2^1/_2$%igem Ammoniak sorgfältig aus und trocknet im Thermostaten. Man trennt den Niederschlag vom Filter,

[1]) *Treadwell*, Lehrbuch der analytischen Chemie. Bd. 2. S. 66 (1907).

verbrennt letzteres in der Platinspirale und glüht das ganze im Platintiegel zuerst über kleiner Flamme, schließlich vor dem Gebläse bis zur Konstanz.

Den anderen Teil der Lösung versetzt man zur Bestimmung der Phosphorsäure mit einem großen Überschuß von Magnesiamixtur (55 *g* kristallisiertes Magnesiumchlorid, 105 *g* Ammoniumchlorid, 2 cm^3 konzentrierte Salzsäure auf 1 *l* Wasser) und erhitzt bis zum beginnenden Sieden. Nun läßt man unter beständigem Umrühren $2^1/_2$%igen Ammoniak langsam zufließen, bis der Niederschlag beginnt sich abzuscheiden, und reguliert dann den Ammoniakzufluß so, daß etwa 4 Tropfen pro Minute der Lösung zugesetzt werden. Man muß darauf achten, daß der zuerst ausfallende Niederschlag kristallinisch ist. Zeigt sich eine milchige Trübung, so muß dieselbe wiederum in Salzsäure gelöst werden. Man gibt auf diese Weise soviel Ammoniak zur schwach siedenden Lösung, bis dieselbe deutlich danach riecht. Dann läßt man erkalten, fügt $^1/_5$ des Flüssigkeitsvolumens konzentrierten Ammoniak hinzu und kann schon nach 10 Minuten abfiltrieren. Die weitere Behandlung des Niederschlages ist die gleiche wie bei der Magnesiumfällung.

Die Berechnung der PO_4-Menge ergibt sich, wenn das Gewicht des gefundenen $Mg_2P_2O_7$ gleich p Gramm ist, nach dem Ansatze:

$$Mg_2P_2O_7 : 2\,PO_4 = p : s.$$

Methoden der Untersuchung von Blutplättchen.

Von **H. Deetjen**, Heidelberg.

Zur Untersuchung von Blutplättchen zu biologisch-chemischen Zwecken ist es in der Regel notwendig, sie zu isolieren. Es geschieht dies am besten durch die von *Morawitz*[1]) empfohlene Methode des fraktionierten Zentrifugierens des ungerinnbar gemachten Blutes. Indem zunächst nur bei mittlerer Umdrehungsgeschwindigkeit die schwereren Formbestandteile, die roten und weißen Blutkörperchen abgeschleudert werden, können die leichteren Blutplättchen, wenn auch unter großen Verlusten, aus dem abgehobenen Plasma durch nochmaliges Zentrifugieren getrennt erhalten werden. Die Dauer des Zentrifugierens richtet sich nach der Art des verwendeten Blutes. Nähere Einzelheiten über die Methodik finden sich in der Arbeit von *E. Letsche*, „Methoden zur Aufarbeitung des Blutes in seine Bestandteile", dieses Handbuch, Bd. V_1, S. 139. Prinzipiell können zur Verhinderung der Blutgerinnung, die dem Zentrifugieren immer voraufgehen muß, alle die verschiedenen Methoden in Anwendung kommen, welche auch sonst zur Gewinnung von Plasma benutzt werden. (Vgl. darüber *P. Morawitz:* „Die Blutgerinnung", dies Handbuch, Bd. V_1, S. 223.) Doch wird man je nach der Art der Untersuchung eine geeignete Auswahl treffen können und bisweilen auch müssen. So können für das Studium der feineren Lebensvorgänge, wie der Atmung der Blutplättchen, die Methoden, bei denen durch konzentrierte Salzlösungen die Gerinnung verhindert wird, natürlich nicht in Betracht kommen. Aber auch die Fluoride sind hierfür besser nicht zu verwenden, da sie lähmend auf die Zelltätigkeit wirken. Im Gegensatz dazu ist das Natriumfluorid besonders da indiziert, wo es darauf ankommt, das Verhalten von blutplättchenfreiem Plasma und solchem, dem Extrakt aus Blutplättchen nachträglich zugesetzt wird, zu vergleichen. Denn die Fluoride verhindern wegen ihrer toxischen Eigenschaften am besten den Übertritt von Sekretprodukten (Fermentvorstufen) in das Plasma.

Am häufigsten werden Oxalate und Blutegelextrakt, resp. dessen wirksames Prinzip, das Hirudin, zur Verhinderung der Gerinnung gebraucht. Das Hirudin kommt wegen seines hohen Preises allerdings in der Regel nur dort zur Anwendung, wo es sich um Gewinnung geringerer Blut-

[1]) *Morawitz,* Beiträge zur Kenntnis der Blutgerinnung. Deutsches Arch. f. klin. Med. **79**. 215/33. 1904.

mengen handelt. Von den Oxalaten wird neuerdings das Natriumsalz dem Ammoniumoxalat vorgezogen, da letzteres bei einigen Tierarten die roten Blutkörperchen schädigen soll. Eine Konzentration von 1‰ des Natriumsalzes in der Blutflüssigkeit vermag die Gerinnung zu verhindern. Gewöhnlich wird angegeben, daß man zum Auffangen eine 1% Salzlösung benutzen soll. Besser und für viele Zwecke bequemer ist es, von einer isotonischen oder $^1/_{10}$mol Lösung auszugehen. Eine 0·9%ige Na Cl-Lösung ist isotonisch mit einer 1·6%igen Natriumoxalatlösung.[1] Da die $^1/_{10}$mol Lösung 1·52% enthält, kann diese demnach ohne Fehler auch als isotonische Lösung benutzt werden. Man fügt dann also zu einem Volumen einer 1·52% Natriumoxalatlösung etwa 10 Volumen Blut. Will man genau die Menge des zugesetzten Oxalates in dem aufgefangenen Blute wissen, was für manche Zwecke wünschenswert sein kann, so muß man durch Wägung die aufgefangene Blutmenge bestimmen.

Wichtig ist die Art der Entnahme des Blutes. Für exakte Untersuchungen ist nur solches Blut zu benutzen, das in starkem Strahl dem Gefäß entströmt und sich rasch mit der gerinnungshindernden Lösung mischt. Fließt das Blut nur tropfenweise, wie bei der Entnahme aus der Ohrvene beim Kaninchen, so liegt die Gefahr vor, daß ein Teil der Blutplättchen zerfällt. Auf jeden Fall soll die Vermischung des Blutes mit Gewebssaft vermieden werden. Es ist deshalb ratsam, bei kleineren Tieren aus der Carotis das Blut zu entnehmen. Die Technik ist genügend bekannt. Es mag nur erwähnt werden, daß man auch ohne Einbinden einer Kanüle auskommt, wenn man das kopfwärts unterbundene Gefäß herzwärts abklemmt und dann durch die Gefäßscheide nahe der Unterbindungsstelle eine dünne Nadel flach einsticht. Man kann damit nach Durchscheidung der Arterie das Gefäß etwas hervorziehen und das Blut direkt in das Gefäß einströmen lassen. Bei größeren Tieren, z. B. bei Hund, Ziege und Pferd, kann sehr bequem durch Punktion der Halsvene mit einer starken Hohlnadel reichlich Blut gewonnen werden. Man verfährt beim Hund so, daß man zunächst am Hals die Haare kurz schneidet. Dann setzt sich der Assistent auf einen Stuhl, nimmt den Hund zwischen die Beine und hält, mit der Hand die Schnauze umgreifend, den Kopf nach hinten und oben. Der Operateur komprimiert mit der linken Hand den Hals etwas und tastet die Halsgegend einige Zentimeter von der Mittellinie ab. Man fühlt dann leicht bei einiger Übung die prall gefüllte Vene. In diese wird die Nadel fest eingestoßen. Das Blut entleert sich meist in starkem Strahl. Wenn die gewünschte Menge eingeflossen ist, wird durch Umrühren mit einem Glasstab oder durch Umstülpen gemischt.

Die Art, wie man weiterhin verfährt, richtet sich ganz nach dem Plan der Untersuchung. Sollen die Blutplättchen möglichst isoliert und rein gewonnen werden, so wird nach dem oben angedeuteten Prinzip ver-

[1]) Angabe von *Hörhammer*, Untersuchungen über den Kalkgehalt des Zellkerns. Biochem. Zeitschr. Bd. **39**. S. 277 (1912).

fahren, indem man zunächst die roten und weißen Blutkörperchen abzentrifugiert, dann das Plasma abhebt und nochmals zentrifugiert. So einfach die Methode ist, so ergeben sich doch bisweilen sehr unangenehme Störungen, welche das Resultat beeinträchtigen. So fanden *Schittenhelm* und *Bodong*[1]), welche die Isolierung der Blutplättchen zum Studium der Gerinnungsvorgänge vornahmen, daß nicht selten der Bodensatz spontan gerann. Um dies zu vermeiden, wird man besonders sorgfältig alle Momente, welche den Zerfall der Blutplättchen begünstigen, auszuschließen suchen. Ein solcher Zerfall kann eintreten, wenn das Blut nicht rasch genug dem Gefäß entströmt und die Mischung mit dem gerinnungshemmenden Mittel unvollkommen ist; ferner durch Abgabe von Alkali vom Glase an die an der Wand haftenden Blutplättchen. Durch vorheriges sehr gutes Ausdämpfen oder besser durch Paraffinieren des Glases läßt sich diese Gefahr ausschließen. Endlich ist auch ein spontaner Zerfall denkbar durch Erstickung der Blutplättchen, wenn die Masse der abgeschleuderten Blutplättchen durch zu starkes Zentrifugieren fest zusammengepreßt wird. Überhaupt sind in den meisten Fällen bessere Resultate zu erwarten, wenn nicht zu lange zentrifugiert wird. Die Blutplättchenmasse ist dann kleiner, aber relativ wirksamer.

Wohl niemals wird man ein Resultat bekommen, das der Gewichtsmenge der Blutplättchen entspricht, wenigstens wenn es sich um Untersuchung der Fermente handelt. Diese sind offenbar sehr empfindlich und werden leicht alteriert. Das zeigt sich besonders bei dem Versuch, durch Waschen mit Kochsalzlösung Reste von Plasma etc. zu entfernen. Übereinstimmend fanden *Schittenhelm* und *Bodong*[2]) bezüglich des Gerinnungsfermentes und *Abderhalden* und *Deetjen*[3]) bei Untersuchung des peptolytischen Fermentes, daß die Lösungen gänzlich unwirksam waren, wenn die abzentrifugierte Blutplättchenmasse mit Kochsalzlösung verrührt und dann wieder zentrifugiert wurde. Man kann deshalb nur so den Bodensatz von der Hauptmenge des anhaftenden Plasmas befreien, daß man mit Kochsalzlösung überschichtet, einige Minuten stehen läßt und abgießt. Dies kann 2—3mal wiederholt werden. Um aus der vorbehandelten Masse einen wirksamen Extrakt zu bekommen, ist es notwendig, die Plättchen aufzulösen. Das geschieht durch Behandlung mit destilliertem Wasser. Wie wichtig es ist, Lösungen der Plättchen und nicht nur Aufschwemmungen zu verwenden, zeigt die Beobachtung von *Morawitz*.[4]) Wenn er eine Aufschwemmung von Plättchen in Kochsalzlösung zu einer kalkhaltigen Fibrinogenlösung setzte, so verlief die Gerinnung nur sehr langsam und

[1]) *Schittenhelm* und *Bodong*, Beiträge zur Frage der Blutgerinnung mit besonderer Berücksichtigung der Hirudinwirkung. Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. 54. S. 223 (1906).

[2]) *Schittenhelm* und *Bodong* l. c.

[3]) *Abderhalden* und *Deetjen*, Weitere Studien über den Abbau einiger Polypeptide durch die roten Blutkörperchen und die Blutplättchen des Pferdeblutes. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 53. H. 3. S. 280 (1907).

[4]) *Morawitz* l. c. S. 225.

schleppend. Wurden sie dagegen mit destilliertem Wasser 10 Minuten lang stehen gelassen und dann der Fibrinogenlösung zugesetzt, so trat die Gerinnung sehr rasch ein.

In allen Versuchen, wo es sich um den Nachweis einer Fermentwirkung handelt, ist auch daran zu denken, daß eventuell die Gegenwart aktivierender Substanzen notwendig ist. So fanden *Abderhalden* und *Deetjen*[1], daß das in den Blutplättchen enthaltene peptolytische Ferment nur bei Gegenwart von Plasma wirksam war.

Auch ohne die Blutplättchen durch Zentrifugieren völlig zu isolieren, lassen sich ihre Eigenschaften bisweilen untersuchen, wenn man sich darauf beschränkt, die roten und weißen Blutkörperchen aus dem Blut zu entfernen, und nun einmal plättchenreiches Plasma und andrerseits plättchenfreies in seinem Verhalten vergleicht. Ob ein Plasma frei ist von Blutplättchen, kann mit Sicherheit nur durch die mikroskopische Untersuchung festgestellt werden. Im hängenden Tropfen sind die Plättchen bei Beobachtung mit einem mittelstarken Trockensystem (*Zeiß* D) und stärkerem Okular (*Zeiß* 4) ohne weiteres leicht zu erkennen. Bei Untersuchungen mit plättchenhaltigem Plasma ergibt sich aber eine Schwierigkeit, nämlich die Blutplättchen im Plasma zur Auflösung zu bringen. Verdünnung mit destilliertem Wasser kann nicht gut angewendet werden, da die Verdünnung sehr bedeutend sein müßte. Der einzig mögliche Weg ist der, daß man das plättchenhaltige Plasma zur Gerinnung bringt, wobei Zerfall der Plättchen stattfindet. Das gelingt sehr leicht bei Plasma, welches durch Oxalate ungerinnbar geworden ist, durch nachträglichen Zusatz von Kalksalzen. Bei Hirudinblut tritt auch durch Kalksalze keine Gerinnung ein, weil das Hirudin das fertige Ferment unwirksam macht. Es ist dann also im Plasma überhaupt keine Vorstufe des Ferments, die durch Kalksalze aktiviert werden könnte, mehr vorhanden. Man wird also für Anstellung solcher Versuche die Benutzung von kalkfällenden Mitteln vorziehen.

Am besten bestimmt man in diesem Fall durch Wägung die gewonnene Blutmenge. Wenn man zur Verhinderung der Gerinnung eine bestimmte Menge $^1/_{10}$mal-Natriumoxalatlösung benutzte, kann man dann ohne weiteres im plättchenreichen Plasma durch Zusatz der gleichen Menge äquivalenter Chlorcalciumlösung (1·1%) die Gerinnung und damit den Zerfall der Blutplättchen einleiten.

Bei einigen Untersuchungen muß man auf eine Isolierung der Blutplättchen überhaupt verzichten, weil sie durch das Zentrifugieren so geschädigt werden, daß keine brauchbaren Resultate zu bekommen sind. Das war der Fall bei Versuchen über die Atmung der Blutplättchen, die von *Onaka*[2] und von *Loeber*[3] ausgeführt sind. *Onaka* fand die Atmung so

[1]) *Abderhalden* und *Deetjen* l. c.

[2]) *Morizo Onaka*, Über Oxydationen im Blut. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **71**. H. 3. S. 193 (1911).

[3]) *J. Loeber*, Zur Physiologie der Blutplättchen. Arch. f. ges. Physiol. Bd. **140**. S. 281 (1911).

empfindlich, daß schon kurz dauerndes kräftiges Schütteln mit Glasperlen den Sauerstoffverbrauch verminderte. Es wurde deshalb versucht, durch ein indirektes Verfahren den Anteil der Blutplättchen an der Atmung zu bestimmen, nämlich einfach durch Vergleichung der Atmung von defibriniertem und ungerinnbar gemachtem Blut. Das konnten die Autoren deshalb tun, weil die kernlosen roten Blutkörperchen keine Atmung zeigen und die Unterschiede in der Leukozytenzahl der beiden Blutarten zu gering waren, um die großen Unterschiede in der Atmung zu erklären.

Einen Übergang von den bisher genannten Methoden, welche die Isolierung von größeren Mengen von Blutplättchen ermöglichen, zu denjenigen, welche die Isolierung zu mikroskopisch-biologischen Untersuchungen bezwecken, bildet die Paraffinmethode von *Bürker*.[1] Er schneidet aus einer Paraffinplatte ein quadratisches Stück von 3—4 *cm* Seitenlänge und läßt auf die geglättete Oberfläche einen Tropfen Blut aus der Fingerbeere auffallen. Das Präparat wird dann in der feuchten Kammer vor Eintrocknung und Berührung mit Fremdkörpern geschützt aufbewahrt. Der Tropfen gerinnt nicht. Die roten und weißen Blutkörperchen senken sich allmählich, die Blutplättchen steigen in die Höhe. Wenn man nach 20—30 Minuten die Kuppe des Bluttropfens mit einem sehr sorgfältig gereinigten Deckglas berührt und wieder abhebt, so haftet an ihm ein Tropfen Plasma mit einer Unmenge Blutplättchen. Sie zerfallen rasch auf dem Glase. Bedingung für das Gelingen scheint zu sein, daß der Tropfen sich hoch einstellt. Man darf nicht mehrere Tropfen übereinander auffangen. Worauf die Ungerinnbarkeit beruht, ist nicht ganz klar. Die Vermeidung der Berührung mit Fremdkörpern allein ist es wohl nicht. Vielleicht wird das Entweichen der Kohlensäure aus dem Blut durch die Art der Tropfenbildung verhindert.

Zur Isolierung der Blutplättchen für mikroskopische Untersuchungen wird ihre Eigenschaft, am Glase sehr leicht zu haften, benutzt. Man entnimmt ein Tröpfchen Blut aus der Fingerbeere, fängt es auf einem Deckglas auf und bringt dieses auf einen Objektträger, auf dem man vorher zweckmäßig zwei dünne Glasfäden parallel nebeneinander aufgelegt hat. Nun wird das Blut fortgeschwemmt, indem man von der einen Seite physiologische Kochsalzlösung oder andere Untersuchungsflüssigkeiten zufließen läßt und von der entgegengesetzten Seite mit Filtrierpapier absaugt. Die Blutplättchen bleiben zum größten Teil am Deckglas und Objektträger kleben. Auf diese Weise läßt sich sehr leicht und exakt das Verhalten der Blutplättchen gegenüber verschiedenen Lösungen untersuchen.[2] In Kochsalzlösungen gehen sie unter dem Einfluß des Alkali des Glases rasch zugrunde. Will man dies vermeiden, so muß man Gläser aus Quarz benutzen und durch Quarzrohr destilliertes Wasser verwenden. Bei der

[1] *K. Bürker,* Blutplättchen u. Blutgerinnung. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **102**. S. 41 (1911).

[2] Näheres findet sich in der Arbeit von *H. Deetjen,* Zerfall und Leben der Blutplättchen. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **63**. H. 1. S. 1 (1909).

Untersuchung auf gewöhnlichem Glas verhindern gerinnungshemmende Mittel nur zum Teil den Zerfall. So vermögen kalkfällende Salze nur diejenigen Blutplättchen intakt zu halten, welche sich bald vom Glase ablösen. Die am Glase klebenden werden auch bei Abwesenheit von Kalksalzen allmählich durch die indirekte Wirkung des Alkalis zerstört. Andere Mittel, wie Hirudinserum (in Kochsalzlösung ist das Hirudin unwirksam) und Peptonlösungen, verhindern dagegen vollkommen den Zerfall, gleichzeitig wirken sie aber lähmend, so daß amöboide Bewegungen der Blutplättchen nicht beobachtet werden.

Zur Untersuchung der Lebenserscheinungen bei Benutzung von Deckgläsern und Objektträgern aus gewöhnlichem Glas bewährten sich bisher am besten peroxydhaltige Lösungen. Eine gute Untersuchungsflüssigkeit ist folgende:

Mangansulfat	0·5
Chlornatrium	0·75
Aq. dest.	100·0

Zu dieser Lösung fügt man etwa 10 Tropfen alten Amylens (Trimethyläthylen), neutralisiert dann durch Kochen mit Magnesia alba und filtriert. Die Lösung ist dauernd haltbar.[1]) Statt des Amylens kann man auch andere Peroxyde verwenden, z. B. Wasserstoffsuperoxyd. Von einer $1^0/_0$igen H_2O_2-Lösung setzt man etwa 0·5 cm^3 zu obiger Salzlösung. Diese Lösung ist aber nicht haltbar. Die Behandlung der Lösung mit Magnesiumkarbonat ist notwendig, weil Peroxyde meist sauer reagieren. Die Neutralisierung mit dem Magnesiumsalz ist besser als mit dem früher angegebenen Natriumkarbonat. Die Bewegungsfähigkeit wird anscheinend durch Verunreinigungen des Amylens, die durch Magnesiumbehandlung beseitigt werden, beeinträchtigt. Es wird sicher möglich sein, noch bessere Lösungen zum Studium der Lebensvorgänge der Blutplättchen zu finden. Peroxydhaltige Lösungen sind nicht vollkommen indifferent. — Eine Reihe von Substanzen vermögen den Zerfall der Blutplättchen zu verhindern: so scheinen z. B. Muzine und die ihnen nahestehenden Mukoide das Leben und die Bewegungsfähigkeit der Plättchen zu erhalten. Systematische Untersuchungen darüber stehen aber noch aus.

Es sei hier noch erwähnt, daß die Methode, durch Spülung die Blutplättchen am Glase zu isolieren, auch anwendbar für Leukocyten ist. Man verfährt dabei so, daß man ohne Unterstützung des Glases mit Glasfäden das Blut in ganz dünner Schicht sich ausbreiten läßt und dann nicht sofort, sondern erst nach 1—2 Minuten spült. Dann haften zahlreiche weiße Blutkörperchen am Glase. Noch sicherer gelingt der Versuch, wenn man mit der Spülung wartet, bis die ersten Fibrinfäden aufschießen. Diese einfache Methode ist bisher, wie es scheint, noch kaum benützt, obwohl sie sehr bequem und leicht für eine Reihe von biologisch-chemischen Untersuchungen anwendbar ist.

[1]) Eine fertige „Peroxydlösung zur Untersuchung der Blutplättchen" liefert die Chemische Fabrik von *C. A. F. Kahlbaum*, Berlin.

Spektrographische Methoden zur Bestimmung des Hämoglobins und verwandter Farbstoffe.

Von **O. Schumm**, Hamburg.

Allgemeines.

Als biochemische Arbeitsmethode dient die Spektrographie in erster Linie zur genauen Bestimmung des absorptiven Verhaltens von tierischen und pflanzlichen Farbstoffen. Auf der einfachen Kontrastphotographie beruhend gibt sie die Absorptionsspektra als nichtfarbige Bilder wieder[1]), auf denen Licht und Schatten dem absorptiven Verhalten der Farbstoffe entsprechend verschiedenartig verteilt sind. Die von Farbstofflösungen gewonnenen spektrographischen Negative geben die (mehr oder weniger stark) absorbierten Bezirke des betreffenden Spektrums als hellere scharf oder unscharf begrenzte Unterbrechungen eines schwarzen parallelen Bandes wieder, die von den Negativen hergestellten Abzüge (die Positive) dagegen schwarz auf weißem Grunde. Die spektrographische Einrichtung muß so arbeiten, daß sie von weißem (d. i. allfarbigem) Licht ein in seiner ganzen Ausdehnung als gleichmäßig schwarzes Band erscheinendes Negativ liefert, dessen Abzug (Positiv) ein paralleles, gleichmäßig weißes Band darstellt. Diese Forderung läßt sich bei dem jetzigen Stande der spektrographischen Technik nur dann erfüllen, wenn man bestimmte

[1]) Aufnahmen des Spektrums in den natürlichen Farben lassen sich mit Hilfe der Autochromplatten von *Lumière* nicht ausführen, wohl aber durch Interferenzphotographie nach *Lippmann* und *Lehmann* unter Anwendung einer Quecksilberkassette. Die so hergestellten Photogramme können direkt in der Aufsicht bei seitlicher Blickrichtung oder mit Hilfe eines besonderen von *C. Zeiß,* Jena, konstruierten Apparates betrachtet und bei auffallendem Lichte auch projiziert werden. Bei biochemischen Arbeiten hat dieses wissenschaftlich sehr interessante Verfahren nur vereinzelt Anwendung gefunden, kommt auch wegen seiner Umständlichkeit als biochemische Arbeitsmethode weniger in Betracht, so daß eine eingehende Schilderung nicht notwendig erscheint. Interessenten seien auf die Originalliteratur verwiesen: *H. Lehmann*, Die Praxis der Interferenzfarbenphotographie. Photographische Rundschau. 1909. Heft 11. *Rost*, *Franz* und *Heise* haben kürzlich für die Zwecke der Demonstration eine Anzahl Blutspektren nach dem genannten Verfahren aufgenommen (s. *E. Rost,* Diskussionsbemerkung zu dem Vortrage des Herrn Professor Dr. *W. Küster*-Stuttgart: „Über den Blutfarbstoff". Sitzung am 5. Oktober 1911). Ber. der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft. Bd. 21. S. 524.

Versuchsbedingungen innehält.[1]) Das gilt sowohl für die Art des spektrographischen Apparates, als auch für die Art der photographischen Platten und deren Behandlung, namentlich hinsichtlich der Belichtungszeit. Ändert man die Verhältnisse in einem der unten näher zu besprechenden wesentlichen Punkte, so kann das von dem weißen Lichte (ohne Einschaltung einer absorbierenden Flüssigkeit) gewonnene Spektrogramm Ungleichheiten der Schwärzung (sogenannte Plattenminima) aufweisen, die beim Kopieren das Auftreten geschwärzter Bezirke auf dem Positiv bewirken. Diese Pseudoabsorptionsstreifen oder Fehlbanden sind unter Umständen von den durch eine eingeschaltete Flüssigkeit hervorgerufenen echten Absorptionsstreifen nicht zu unterscheiden und können daher zu den größten Irrtümern und Fehlern Veranlassung geben. Die Bedingungen, unter denen das Auftreten der Plattenminima oder Fehlbanden vermieden wird, sind uns bei den einzelnen Plattensorten streng genommen nur für den Fall der spektrographischen Aufnahme weißen Lichtes, mit anderen Worten für die Herstellung eines „leeren Spektrogrammes“ genauer bekannt. Soll nun das Absorptionsspektrum einer Farbstofflösung spektrographiert werden, so ist man oft gezwungen, von den für die Herstellung eines leeren Spektrums gültigen Versuchsbedingungen namentlich hinsichtlich der Expositionszeit abzuweichen und muß deshalb mit der Möglichkeit rechnen, daß auf dem Spektrogramm die sogenannte Plattenminima und demnach auf dem Positiv Fehlbanden auftreten. Um die dadurch möglichen Fehler nicht zu übersehen, muß man außer den Absorptionsspektren jedesmal auch Aufnahmen des leeren Spektrums bei der gleichen Expositionszeit machen; auch ist in vielen Fällen eine kontrollierende spektroskopische Untersuchung der Farbstofflösung unerläßlich. Über die Lage der Absorptionsstreifen im Spektrum gibt das einfache Spektrogramm keine Auskunft. Dazu ist die Mitaufnahme eines genau bekannten und konstanten Linienspektrums notwendig. Dessen Linien dienen als Marken, von denen aus die Ausmessung der absorbierten Bezirke erfolgt. Falls nur eine annähernd richtige Lagebestimmung verlangt wird, kann man statt des Linienspektrums eine mitaufgenommene Orientierungsskala oder Wellenlängenskala als Maßstab benutzen.

[1]) Die Herren *E. Rost*, *Fr. Franz* und *R. Heise* haben das bleibende Verdienst, als erste an einem genügend großen Material den überzeugenden Nachweis geführt zu haben, daß man beim Innehalten bestimmter Versuchsbedingungen mit einem Gitterspektrographen vollständige Spektrogramme des Blutfarbstoffes und seiner Abbauprodukte in solcher Ausführung herstellen kann, daß ihre wissenschaftliche Verwertung möglich ist. — Über den jetzigen Stand der Spektrographie (von Absorptionsspektren) soll die vorliegende Abhandlung Auskunft geben, worin diejenigen Verfahren ausführlich geschildert sind, die sich als zuverlässig erwiesen haben und zu allgemeinerer Anwendung geeignet erscheinen. — Betreffs besonderer Abänderungen und Verfeinerungen, die erst vereinzelt zur Anwendung gekommen sind, sei auf die photochemische Literatur und die in der Bioch. Zeitschr., Bd. 38, 1912, Heft 5 erschienene Abhandlung „Photographische Bestimmung der Intensitätsverteilung in Blutspektren“ von *W. Heubner* und *H. Rosenberg* verwiesen.

Eine einfache spektrographische Untersuchung hat demnach in den Hauptzügen folgenden Gang. Man stellt in geeigneten Absorptionsgefäßen unter fortlaufender spektroskopischer Kontrolle solche Schichtdicken oder Verdünnungen der zu spektrographierenden Flüssigkeit her, die zur Erzielung brauchbarer Spektrogramme geeignet erscheinen, und photographiert nacheinander auf eine Platte das Linienspektrum, das fragliche Absorptionsspektrum und das leere Spektrum. Unter günstigen Umständen kann schon der erste Versuch eine brauchbare Platte liefern. Oft wird man aber erst nach mehreren Aufnahmen ein Spektrogramm erzielen, das die fraglichen Absorptionserscheinungen in der erwünschten Weise wiedergibt. Hat man nun ein gutes Spektrogramm hergestellt, so ist damit noch keineswegs gesagt, daß es sich auch zu einer genauen Ortsbestimmung etwa vorhandener Absorptionsstreifen eignet. Dazu muß man die Farbstofflösung bei der Grenzverdünnung spektrographieren. Das ist diejenige Verdünnungsstufe einer Farbstofflösung, bei der das Spektrogramm die Absorptionsstreifen möglichst schmal, aber noch deutlich sichtbar wiedergibt. Die Herstellung solcher für die genaue Ortsbestimmung der Streifen geeigneten Spektrogramme ist nicht ganz einfach und erfordert meistens eine Reihe von Aufnahmen bei stufenweise verminderter Schichtdicke oder Konzentration der Lösung. Derartige Reihen von Spektrogrammen (sogenannte Konzentrationsreihen)[1], aus denen man die den verschiedenen Konzentrationen entsprechenden Absorptionsbilder erkennen kann, sind allgemein erforderlich, wenn man das absorptive Verhalten eines Farbstoffes möglichst erschöpfend darstellen will.

Vorbedingung für die sachgemäße und erfolgversprechende Anwendung der Spektrographie ist das Vertrautsein mit den Grundlagen der Absorptionsspektralanalyse. Da letztere an dieser Stelle keine Erörterung finden kann, sei nur hervorgehoben, daß die Absorptionserscheinungen vieler Farbstoffe schon durch kleine Mengen verschiedener Reagenzien, namentlich Säuren und Alkalien stark geändert werden können. Daher muß auf die Reaktion der Farbstofflösungen besonders geachtet werden. Auch ist es nicht gleichgiltig, ob die Lösungen klar oder trüb sind. Ein starker Gehalt an verunreinigenden Schwebestoffen kann das Spektrogramm wesentlich beeinflussen. Man benutzt daher zu den Aufnahmen wenn möglich klare Lösungen der Farbstoffe. Das „Auflösungsvermögen" der spektrographischen Apparate ist wie das der Spektroskope von der Dispersion abhängig. Mit der Dispersion ändert sich in gewissem Umfange der Charakter der Absorptionsbilder. Letztere sind außerdem wesentlich verschieden, je nachdem sie in einem Prismenspektrographen oder Gitterspektrographen erzeugt werden. Es ist

[1] Solche Konzentrationsreihen von Oxyhämoglobin und einer Anzahl seiner Abbauprodukte sind kürzlich von *Rost, Franz* und *Heise* hergestellt und veröffentlicht worden. *E. Rost, Fr. Franz* und *R. Heise,* Beiträge zur Photographie der Blutspektra, unter Berücksichtigung der Toxikologie der Ameisensäure. Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. 32. H. 2 (1909). Verlag von J. Springer, Berlin.

daher notwendig, einigermaßen darüber unterrichtet zu sein, welche Art optischen Systems sich für den zu beschaffenden Spektrographen am besten eignet.

Die spektrographische Einrichtung.

Zu einer vollständigen spektrographischen Einrichtung gehören folgende Apparate und Hilfsmittel.

1. Ein Gitterspektrograph oder ein Prismenspektrograph (noch besser beide) und eine optische Bank mit Objekttisch, Kondensor und Lampe; ein Spektroskop, ein allseitig beweglicher Spiegel auf Stativ und Absorptionsgefäße. Das Spektroskop kann zur Not entbehrt werden, wenigstens, wenn der Spektrograph eine Einrichtung besitzt, durch die er leicht in ein Spektroskop umgewandelt werden kann.

2. Eine Einrichtung zur Erzeugung von Heliumlicht (Heliumröhre mit Halter, Funkeninduktor, Akkumulator) oder anderem ein geeignetes Linienspektrum liefernden Licht und eine Einrichtung zur Beleuchtung des Spektrographenspalts mit Gaslicht oder elektrischem Licht.

3. Photographische Platten nebst dem üblichen Zubehör und ein Trockenschrank.

4. Eine Dunkelkammer, die vorteilhaft so geräumig ist, daß darin auch der Spektrograph, die Einrichtung zur Erzeugung des Heliumlichtes und der Trockenschrank aufgestellt werden können.

5. Ein Meßapparat zum Ausmessen der Spektrogramme.

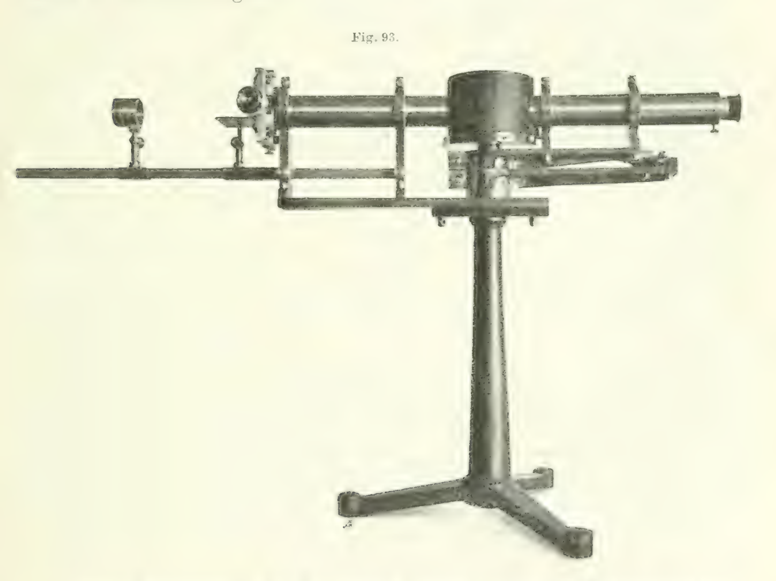
1. Spektrograph, optische Bank, Spektroskop, Absorptionsgefäße.

Die richtige Handhabung des Spektrographen wird wesentlich erleichtert, wenn er mit einer optischen Bank fest verbunden ist, auf der Objekttisch, Kondensor und Lampe angebracht sind. Diese Bedingungen sind bei einigen neueren Konstruktionstypen erfüllt. Letztere gestatten ein genaues Arbeiten, da sich mit ihnen auf einfachste Weise auch bei zeitlich auseinanderliegenden Untersuchungen dieselben Versuchsbedingungen hinsichtlich der Intensität des auf den Spalt projizierten Lichtes herstellen lassen, und verdienen daher entschieden den Vorzug vor den einfachen Spektrographen, bei denen Objekttisch, Kondensor und Lampe als Zusatzapparate auf besonderen Stativen angebracht werden müssen, deren richtige Aufstellung namentlich dann die größten Schwierigkeiten verursacht, wenn Reihen von Untersuchungen bei genau gleicher Beleuchtung des Spalts ausgeführt werden sollen. Diese einfachen Spektrographen sollen deshalb nur kurz besprochen werden.

Zu der spektroskopischen Voruntersuchung benutzt man entweder (und am besten) ein besonderes Spektroskop oder Spektrometer, das genaue Messungen im Spektrum gestattet, oder man bedient sich eines Spektrographen, der so eingerichtet ist, daß er nach dem Auswechseln des Kamerateils gegen ein Beobachtungsfernrohr für die Spektroskopie und

okulare Spektrometrie geeignet ist. Derartige Apparate sind namentlich für solche Fälle geeignet, wo die Mittel und der verfügbare Raum die Aufstellung eines Präzisionsspektrokops (Spektrometers) außer dem Spektrographen nicht gestatten. Wo solche Rücksichten nicht ausschlaggebend sind, ist es vorteilhafter, einen Spektrographen und ein Präzisionsspektroskop (Spektrometer) aufzustellen. Man hat dann den Vorteil, ohne jeden Zeitverlust von der okularen Messung zur Spektrographie übergehen zu können. Für Institute, in denen spektroskopische und spektrographische Untersuchungen oft nebeneinander ausgeführt werden müssen, ist die Aufstellung besonderer spektroskopischer und spektrographischer Apparate natürlich nicht zu umgehen.

Fig. 93.



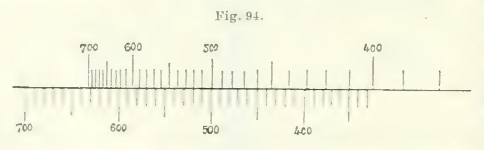
Eine Besprechung der für solche Zwecke geeigneten Prismenspektroskope und Prismenspektrometer erscheint nicht notwendig, da diese Instrumente allgemeiner bekannt sind. Da das für die Gitterspektroskope nicht gilt, soll hier ein einfaches und praktisches Gitterspektrometer angegeben werden, das sich dem Verfasser für die Voruntersuchung der zu spektrographierenden Objekte als sehr geeignet erwiesen hat. Es dient außerdem allgemein zu genauen Ortsbestimmungen von Absorptionsstreifen. Die Konstruktion ergibt sich aus der Abbildung (s. Fig. 93). Das abgebildete Präzisionsinstrument hat symmetrischen Spalt, eine leicht abnehmbare optische Bank mit verstellbarem Kondensor und Objekttisch, Objektive von 20 *cm* Brennweite, ein *Kellner*sches Okular (von 25 *mm* Brennweite) mit

Fadenkreuz und ein Gitter von 3600 Furchen, das sich leicht gegen ein anderes Gitter mit größerer Furchenzahl auswechseln läßt.

Hinsichtlich der Wahl des Spektrographen ist zu bemerken, daß die Gitterspektrographen im allgemeinen den Vorzug verdienen, wenn man Untersuchungen über das absorptive Verhalten von Farbstoffen in beliebigen Teilen des Spektrums, also auch im Violett ausführen und außerdem, wenn man auf dem Spektrogramm Ort und Ausdehnung der Absorptionsstreifen mikrometrisch bestimmen will. Da im Gitterspektrum die den Lichtarten verschiedener Wellenlänge entsprechenden Spektralbezirke nahezu gleiche Ausdehnung haben, braucht man auf einem Gitterspektrogramm nur 2 Stellen ihrer Wellenlänge nach zu markieren, um die Wellenlänge jeder anderen Stelle durch Messung leicht (und annähernd genau) bestimmen zu können. Zu genauen Ortsbestimmungen auf einem Prismenspektrogramm ist eine besondere Wellenlängenkurve erforderlich, deren Herstellung weniger einfach ist als die Eichung des zur Ausmessung des Gitterspektrogrammes erforderlichen Plattenmikrometers (Meßapparates).

Will man vorwiegend die im Blau und Violett auftretenden Absorptionserscheinungen darstellen und erforschen, so ist der Gitterspektrograph in den meisten Fällen entschieden geeigneter als der Prismenspektrograph. Dagegen lassen sich im Rot und Orange auftretende schwache Absorptionsstreifen unter Umständen mit dem Prismenspektrographen leichter und deutlicher darstellen. Diese Unterschiede ergeben sich aus dem verschiedenen Charakter von Prismenspektrum und Gitterspektrum. Um ihn wahrzunehmen, braucht man nur das Spektrum, das ein Gitterspektrograph auf der Mattscheibe zeigt, mit demjenigen eines Prismenspektrographen von gleicher Gesamtdispersion und Objektivbrennweite zu vergleichen. Man sieht dann, daß in dem Prismenspektrum das rote Ende kürzer und das blaue Ende länger ist als im Gitterspektrum. Durch die Fig. 94 ist die verschiedene Verteilung der Lichtarten im Prismenspektrum (oben) und Gitterspektrum (unten) wiedergegeben.

Fig. 94.



Infolge der verschiedenartigen Lichtverteilung liefern Prismenspektrograph und Gitterspektrograph von der gleichen Farbstofflösung abweichende Absorptionsbilder. Die Unterschiede sind namentlich dann auffallend, wenn die Absorptionsspektra mehrere über das ganze Spektrum verteilte Absorptionsstreifen aufweisen. Daher sind Meßresultate, die an Prismenspektrogrammen gewonnen sind, für Untersuchungen mit Gitterapparaten nicht ohne weiteres maßgebend. Hinsichtlich der Farbenverteilung bestehen auch noch Unterschiede zwischen den mit Glasprismen aus verschiedenartigen Glassorten ausgerüsteten Prismenapparaten.

Aus den angeführten Gründen ist anzunehmen, daß die Gitterspektrographen für unsere Zwecke zu allgemeinerer Anwendung kommen werden als Prismenspektrographen. Wo die Umstände es gestatten, wird man aber vorteilhaft außer dem Gitterspektrographen auch einen Prismenspektrographen aufstellen, denn es kommen Fälle vor, in denen Parallelaufnahmen mit beiden Apparaten von großem Werte sind.

Die Erzielung fehlerfreier Spektrogramme gelingt wenigstens bei den meisten Plattensorten in einem mit Flintglasprisma mittlerer Dispersion ausgestatteten Prismenspektrographen leichter als im Gitterspektrographen, weil die photochemisch wirksamsten Lichtarten im Prismenspektrum nicht auf einen so engen Bezirk zusammengedrängt sind wie im Gitterspektrum. Diesem Vorteil steht aber der Nachteil gegenüber, daß die im photochemisch wirksamsten Spektralbezirk auftretenden Absorptionsstreifen im Prismenspektrum bei weitem nicht so deutlich und abgegrenzt erscheinen, wie im Gitterspektrum gleicher Gesamtdispersion. Diese Überlegenheit des Gitterspektrums bei Untersuchungen der im kurzwelligen Spektralbezirk auftretenden Absorptionsstreifen muß demnach doch als richtunggebend für die weitere Ausbildung der Spektrographie gelten, d. h. man wird eine weitere Vervollkommnung der Spektralplatten anstreben müssen.

Die neuerdings in Anwendung gezogenen Gitterspektrographen enthalten keine Originalgitter, sondern dünne, auf einer Glasplatte befestigte Abzüge eines Metallgitters, d. i. einer ebenen Metallplatte mit dicht nebeneinander (100 bis 600 pro *mm*) eingeritzten parallelen Furchen. Gleich den Glasprismenspektrographen gestatten diese Gitterspektrographen Untersuchungen des Spektrums bis in einen Teil des Ultraviolett (etwa bis $\mu\mu$ 370—350) und haben damit den bisherigen Anforderungen, wenn man von besonderen Fällen absieht, genügt. Etwas weiter als mit der gewöhnlichen Glasoptik kann man bei Verwendung der Jenaer U—V-Gläser in das Ultraviolett vordringen. Mit U—V-Optik ausgerüstete Apparate gestatten die Untersuchung bis etwa $\mu\mu$ 310. Ist man genötigt, die Untersuchungen noch weiter in das Ultraviolett auszudehnen, so muß man entweder mit Quarzspektrographen arbeiten oder mit Apparaten, zu deren Herstellung die berühmt gewordenen *Rowland*schen Konkavgitter erforderlich sind. Derartige Konkavgitterapparate kommen aber für unsere Zwecke aus verschiedenen Gründen vorläufig nicht in Betracht.[1])

a) Gitterspektrographen.

Die bisherigen Erfahrungen sind fast ausschließlich mit solchen Gitterspektrographen gewonnen worden, in denen die Zerlegung des Lichtes durch einen sogenannten Gitterabzug bewirkt wurde. In den folgenden Ausführungen ist mit der Bezeichnung „Gitter" stets diese Art von Gitterkopie gemeint.

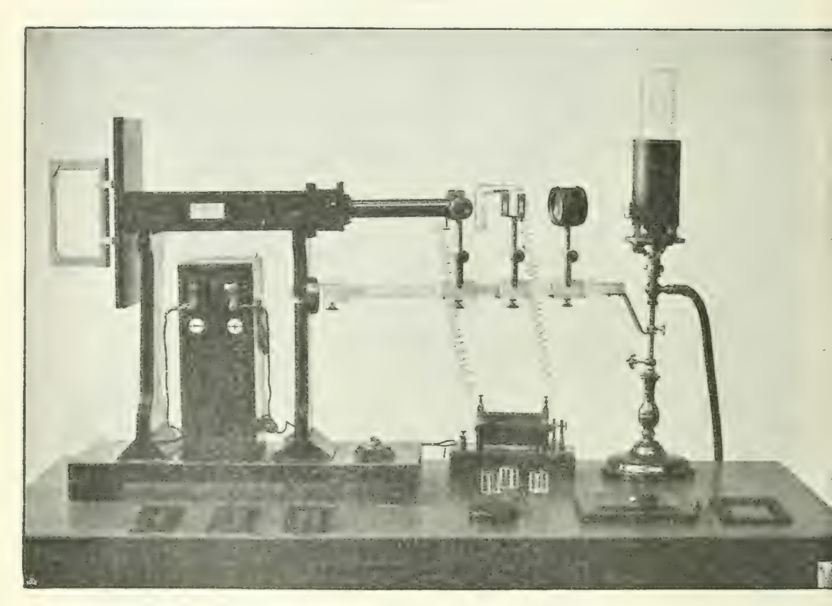
Die Gitter werden in verschiedener Ausführung hergestellt. Gewöhnlich benutzt man Gitter, die auf einer Strecke von einem englischen Zoll etwa

[1]) Wer sich über solche Gitter und ihre Anwendung unterrichten will, sei auf Bd. I des bekannten Handbuches der Spektroskopie von *H. Kayser* (Verlag von J. Hirzel, Leipzig) verwiesen.

14.000 bis 15.000 Furchen haben. Solche Gitter werden in guter Qualität von *Thorp* (Chicago) geliefert. Die von mir benutzten *Thorp*schen Gitterabzüge sind auf einer Platte von planparallelem Glase befestigt.

Einfache Gitterspektrographen ohne optische Bank, die sich aber aus den oben angeführten Gründen für exakte Untersuchungen über das absorptive Verhalten von Farbstofflösungen weniger gut eignen, sind schon seit längerer Zeit gebaut worden.

Fig. 95.



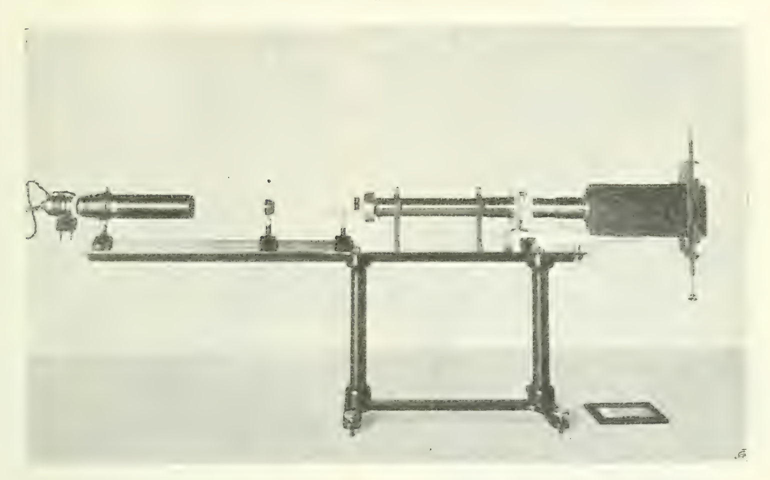
Gitterspektrograph nach *Rost*, *Franz* und *Heise*.

Ein Gitterspektrograph mit fester optischer Bank ist vor einigen Jahren von *Schmidt* und *Haensch*, Berlin, hergestellt und von *Rost*, *Franz* und *Heise* beschrieben worden[1]) (siehe Fig. 95). Der Apparat besaß asymmetrischen Spalt, achromatische Glasobjektive und ein *Thorp*sches Gitter von zirka 15.000 Furchen. Er war auf einem hölzernen Unterteil aufgebaut.

[1]) *E. Rost*, *Fr. Franz* und *R. Heise*, Beiträge zur Photographie der Blutspektra, unter Berücksichtigung der Toxicologie der Ameisensäure. Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. 32, Heft 2. Verlag von J. Springer, Berlin. Die Abbildung des Apparates ist mit freundlicher Genehmigung der Herren Autoren, des Herrn Präsidenten des Kaiserlichen Gesundheitsamtes in Berlin und des Verlages von J. Springer der genannten Abhandlung entnommen worden.

Ein Gitterspektrograph mit fester optischer Bank, der das Gleiche leistet wie der von *Rost*, *Franz* und *Heise* bei ihren grundlegenden Versuchen benutzte Apparat, außerdem aber die Benutzung von Gittern mit verschiedener Furchenzahl gestattet, ist kürzlich vom Verfasser hergestellt worden. Die Konstruktion dieses, in Fig. 96 abgebildeten Gitterspektrographen[1]) wurde durch das Bestreben veranlaßt, einen möglichst dauerhaften und praktischen, dabei einfachen Apparat zu schaffen, der sich

Fig. 96.



Gitterspektrograph mit vertikalem Spalt nach *O. Schumm.*

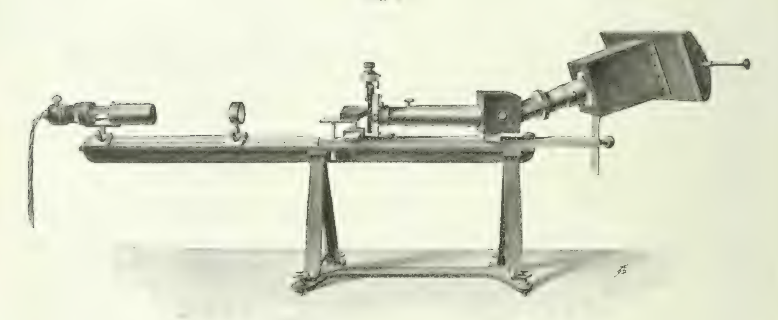
doch zu genauen spektrographischen Arbeiten eignet und die Anwendung verschiedener Gitter gestattet, so daß die Spektra in verschiedener Größe dargestellt werden können. Beim Arbeiten mit verschiedenen Typen von Spektrographen hatte sich gezeigt, daß richtige Spektrogramme und namentlich zuverlässige Reihenaufnahmen auf einer Platte sich nur dann ohne Schwierigkeiten herstellen lassen, wenn der Gang der Lichtstrahlen während der Expositionszeit keinerlei Änderung erfährt. Diese Forderung wird erfüllt, wenn der Spektrograph nebst optischer Bank einen möglichst starren Körper bildet, der bei kleinen Erschütterungen des Aufstellungsortes nicht erzittert. Ich habe darum das ganze System auf einer starren T-Schiene aufgebaut, die ihrerseits mit einem stabilen Unterbau fest verbunden ist.[2]) Die Kamera läßt sich um die mit dem Spalt parallele, die optische Axe in der Gitterebene senkrecht schneidende Axe drehen und

[1]) In der Abbildung ist die zum Schutze von Gitter und Objektiv gegen störendes Licht dienende Kappe fortgelassen.

[2]) Ein Prismenspektrograph, der dieses Erfordernis genügend berücksichtigt, ist schon im Jahre 1909 von *W. Gummelt* konstruiert worden (siehe unter Prismen-

durch eine präzis gearbeitete kräftige Klemmvorrichtung in beliebiger Lage (die durch die verschieden starke Ablenkung der einzelnen Gitter bestimmt wird) feststellen. Um auch das geringste Durchbiegen und Federn des Kameraträgers auszuschließen, habe ich ihn durch eine kurze Säule unterstützt, die mit ihrem oberen Ende in den Kameraträger eingesetzt ist, während das untere Ende mit einer Schraube am Ende der T-Schiene befestigt ist. — Der hohe Unterbau des Apparates bietet den Vorteil, daß er (ohne nachträgliches Erhöhen durch Untersätze) auf einem Arbeitstisch von normaler Höhe gebraucht werden kann, wobei die Kamera ohne weiteres die für die Mattscheibenbeobachtung günstige „Augenhöhe" hat. — Bei Reihenaufnahmen auf einer Platte muß der Kassettenrahmen in senkrechter Richtung verschoben werden. Da hierbei keinerlei seitliche Versetzung eintreten darf, wurde der Kassettenrahmen mit einer besonders

Fig. 97.



Gitterspektrograph mit horizontalem Spalt nach *O. Schumm.*

sicheren Führung versehen. Der Apparat besitzt einen **symmetrischen** Präzisionsspalt und achromatische Objektive von 25 *cm* Brennweite. Die zugehörigen Gitter haben 7200 beziehungsweise 14.490 Furchen pro engl. Zoll.

Dieser Gitterspektrograph gestattet eine sehr weitgehende Verwendung, so daß er für die gewöhnlichen spektrographischen Arbeiten ausreichen dürfte. Will man aus besonderen Gründen eine stärkere Vergrößerung erzielen, so läßt sich die Kamera leicht gegen eine solche mit Teleobjektiv austauschen. Will man sich auf die Benutzung nur eines Gitters (z. B. des gebräuchlichsten, mit zirka 14.000—15.000 Furchen pro engl. Zoll) beschränken, so kann der verstellbare Kameraträger fortfallen. Dann würde die Kamera unmittelbar auf einer etwas länger zu bemessenden und nahe dem rechten Ende seitwärts gebogenen T-Schiene zu

spektrographen). Auch bei den von *A. Hilger* konstruierten großen Quarzspektrographen nach *Féry* und *Littrow* ist die erforderliche starre Verbindung der einzelnen Bestandteile gut durchgeführt (vgl. Hauptkatalog von *A. Hilger*, Ltd., London 1911).

befestigen sein. Die Zahl der Spektren, die man auf einer Platte aufnehmen kann, richtet sich nach der Höhe des Spalts und der Größe von Kassettenrahmen und Kassette. An dem beschriebenen Apparate kann man nach Belieben ohne Schwierigkeit kleinere oder größere Kassettenrahmen anbringen. Am handlichsten und gewöhnlich ausreichend habe ich das Kassettenformat für Platten von 6 × 9 *cm* gefunden.

Während man mit obigem Gitterspektrographen nacheinander mehrere Spektra auf einer Platte aufnehmen kann, ermöglicht er nicht

Fig. 98.

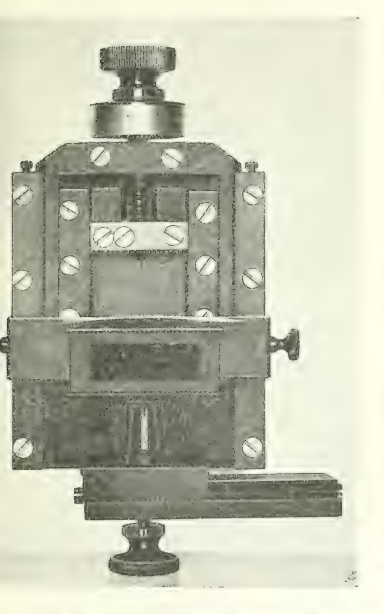
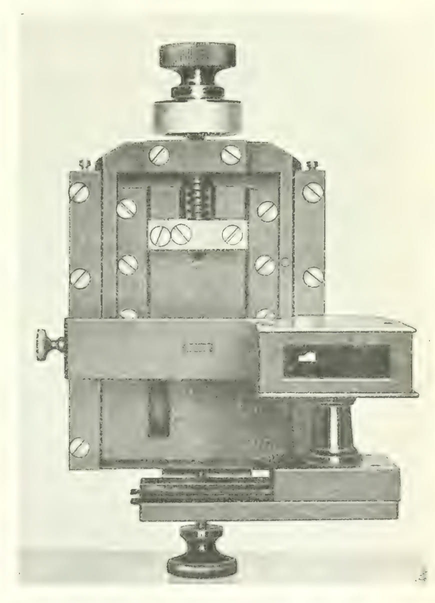


Fig. 99.



die gleichzeitige Aufnahme zweier Spektra. In besonderen Fällen ist es aber notwendig, die Absorptionsspektra zweier Lösungen gleichzeitig zu photographieren. Für solche Zwecke habe ich den in Fig. 98 abgebildeten „Gitterspektrograph mit horizontalem Spalt und seitlich verschiebbarem *Albrecht Hüfner*schen Rhombus" konstruiert[1]), mit dem man auf einer Platte nach Bedarf Doppelaufnahmen und Einzelaufnahmen machen kann. Der von *A. Krüss* (Hamburg) hergestellte Spalt, nebst dem in Schlittenführung verschiebbaren Rhombus ist in Fig. 98

[1]) *O. Schumm*, Ein neues Gitterspektroskop und ein Gitterspektrograph mit variabler Dispersion zu Untersuchungen über Absorptionsspektra. Z. f. physiologische Chemie. Bd. **66**. S. 287 (1910).

und 99 abgebildet. In Fig. 98 hat der Rhombus die für Doppelaufnahmen erforderliche Stellung, in Fig. 99 ist er zur Seite geschoben. Das früher zur Erzeugung eines Vergleichsspektrums allgemein gebräuchliche rechtwinklige Reflexionsprisma findet wegen der dieser Anordnung anhaftenden, von *H. Kayser* ausführlich erörterten Mängel bei meinen Spektrographen keine Anwendung. (Vgl. *H. Kayser*, Handbuch der Spektroskopie, Bd. I, S. 732.)

Auch bei diesem Gitterspektrographen ist das ganze optische System auf einer T-Schiene aufgebaut und bildet einen starren Körper. Die Kamera ist verstellbar, um nach Belieben Gitter mit geringerer oder größerer Furchenzahl, die das Licht verschieden stark ablenken, benutzen zu können. Die beschriebenen Gitterapparate werden entweder mit gewöhnlichen Gläsern oder mit U—V-Gläsern ausgestattet. In letzterem Falle muß auch der Gitterabzug auf einer U—V-Glasplatte befestigt werden. Derartige U—V-Glasgitter sind in guter Qualität bei *C. A. Steinheils* Söhne, München, erhältlich.

Die Wahl der Gitter hat nach dem erforderlichen „Auflösungsvermögen" und der gewünschten Größe des Spektrogrammes zu erfolgen. Es gibt eine günstigste Größe des Spektrogrammes, die aber nicht für alle Fälle dieselbe ist. Es ist diejenige für die mikrometrische Ausmessung geeignetste Ausdehnung des Spektrums, bei der die Absorptionsstreifen noch scharf genug erscheinen, um ihre dunkelste Stelle sicher bestimmen zu können. Da die Absorptionsstreifen von Farbstofflösungen teils schmal und scharf, teils breit und unscharf begrenzt sind, so müßte man, um die in obigem Sinne günstigste Längenausdehnung zu treffen, scharfe Absorptionsstreifen in einem längeren, verwaschene Absorptionsstreifen in einem kürzeren Spektrogramm darstellen. Diese Forderung läßt sich praktisch aus verschiedenen Gründen nur in gewissen Fällen erfüllen. In extremen Fällen, d. h. bei sehr verwaschenen und schwachen Absorptionsstreifen, empfiehlt sich in der Tat die Anwendung eines optischen Systems, das kürzere Spektrogramme liefert.

Die Länge des Spektrums hängt ab von der auf die Flächeneinheit entfallenden Furchenzahl des Gitters und der Brennweite der Objektive; sie steigt mit der Furchenzahl, beziehungsweise Brennweite. Die gewünschte Länge des Spektrums läßt sich durch Kombination eines Gitters von großer Furchenzahl mit einem Objektiv von geringerer Brennweite oder eines Gitters von geringerer Furchenzahl mit einem Objektiv von entsprechend größerer Brennweite erreichen. Je größer die Brennweite der Objektive ist, desto länger und unhandlicher wird der Spektrograph. Es empfiehlt sich deshalb, eine Objektivbrennweite von 25 *cm* nicht wesentlich zu überschreiten, oder, falls die damit erreichbare Länge des Spektrums nicht genügt, an Stelle des einfachen Kameraobjektivs ein sogenanntes Teleobjektiv zu benutzen. Verwendet man in einem Spektrographen ein Gitter von etwa 14.500 Furchen pro engl. Zoll, und Objektive von zirka 25 *cm* Brennweite, so liefert das Spektrum erster Ordnung ein von $\mu\mu$ 700 bis $\mu\mu$ 350

etwa 5 *cm* langes Spektrogramm. (Das Spektrum zweiter Ordnung läßt sich wegen seiner geringeren Reinheit für unsere Zwecke nicht gut verwenden.) Diese Länge genügt vollständig, um die mikrometrische Ausmessung der den Absorptionsstreifen entsprechenden Bezirke der Spektrogramme in befriedigender Weise ausführen zu können. Bei wesentlich größerer Länge würden die Absorptionsstreifen vieler Farbstoffe nicht mehr mit der für die mikrometrische Ortsbestimmung erforderlichen Schärfe darstellbar sein. Die bezeichnete Kombination (Gitter von zirka 14.500 Furchen und Objektive von zirka 25 *cm* Brennweite) ist auch insofern besonders empfehlenswert, als damit verhältnismäßig gut Spektrogramme hergestellt werden können, bei denen die durch die Plattenminima[1]) bedingten Ungenauigkeiten nicht so sehr bemerkbar sind. Auch sind diese Gitter verhältnismäßig leicht in guter Qualität zu beschaffen, während die Gitter von wesentlich geringerer Furchenzahl nach meinen Erfahrungen nicht so leicht in gleichmäßiger Güte erhältlich sind. Z. B. habe ich verschiedentlich Gitter von 7200 Furchen pro engl. Zoll getroffen, die auffälligerweise lichtschwächer waren als Gitter von 14.500 Furchen und auch sonst kein normales Verhalten zeigten.[2])

Um schwache und verwaschene Absorptionsstreifen spektrographisch schärfer darzustellen, benutzt man statt des Objektivs von 25 *cm* Brennweite solche von Brennweiten zwischen 12 und 20 *cm* (z. B. von 15 *cm*) oder man behält das Objektiv von 25 *cm* Brennweite bei und wechselt das Gitter von 14.500 Furchen gegen ein gutes Gitter von zirka 7200 Furchen aus. Man erhält im letzteren Falle mit dem Spektrum erster Ordnung ein von $\mu\mu$ 700 bis $\mu\mu$ 350 etwa $2^1/_2$ *cm* langes Spektrogramm.

Die durch die „Plattenminima" bedingten Mängel der Spektrogramme treten um so stärker auf, je geringer die Dispersion des Gitters und demnach die Länge des Spektrums ist. Deshalb sind bei einer Objektivbrennweite von zirka 25 bis 30 *cm* mit einem Gitter von 3600 Furchen pro engl. Zoll nur schwierig gute Spektrogramme herzustellen, so daß eine solche Kombination vorteilhaft nur zur spektrographischen Darstellung von Absorptionsstreifen benutzt wird, die in den durch die „Plattenminima" nicht beeinträchtigten Bezirken auftreten. Ob die Verwendung einer Kombination des Gitters von 3600 Furchen pro Zoll mit einem Teleobjektiv gegenüber der oben empfohlenen Kombination (Gitter 14.500 und Objektiv 25 *cm*) Vorteile bietet, ist zweifelhaft. Als Objektive benutze ich durchweg Glasachromate mit einem Öffnungsverhältnis von 1 : 8, die mir in sehr guter Beschaffenheit von *Carl Zeiß*, Jena, geliefert worden sind. — Auch die von *C. A. Steinheil* Söhne (München) bezogenen drei-

[1]) Vgl. auch die Abschnitte: „Die photographischen Platten" und „Die Ausführung einer spektrographischen Untersuchung".

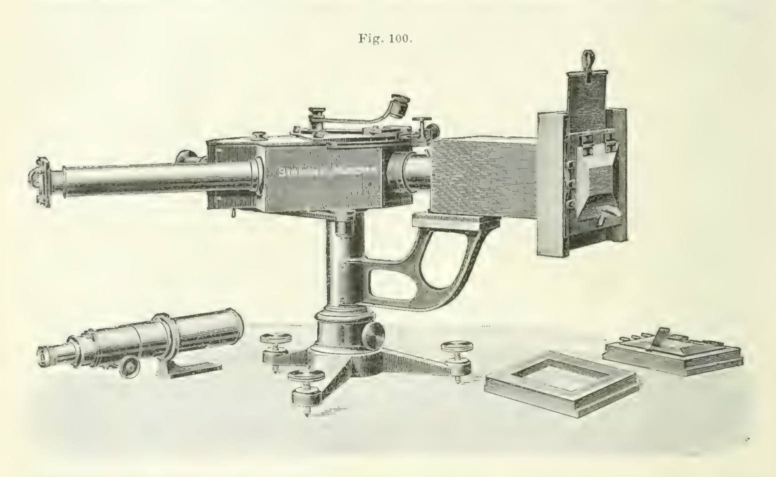
[2]) Eine orientierende Prüfung der Gitter auf ihre verschiedene Lichtstärke läßt sich sehr bequem an einem mit Spektralspalt ausgestatteten Projektionsapparat ausführen.

fachen U—V-Objektive haben sich mir gut bewährt. Die Benutzung der weit teureren Anastigmate an Stelle der Achromate und Apochromate hat sich bei meinen spektrographischen Arbeiten nicht als notwendig erwiesen.

Wenngleich sich die oben besprochenen Gitterabzüge gut bewährt haben, so möchte ich doch erwähnen, daß *C. A. Steinheil* Söhne (München) auch solche Gitterspektrographen herstellen, die mit ebenen *Rowland*schen Metallgittern ausgestattet sind. Ein solcher Apparat ist in Fig. 100 dargestellt.

Originalglasgitter, die durch Einritzen der zahlreichen parallelen Furchen auf eine ebene Glasplatte hergestellt sind, scheinen sich für unsere Zwecke kaum besser zu eignen als die oben besprochenen Gitter. Ich hatte

Fig. 100.



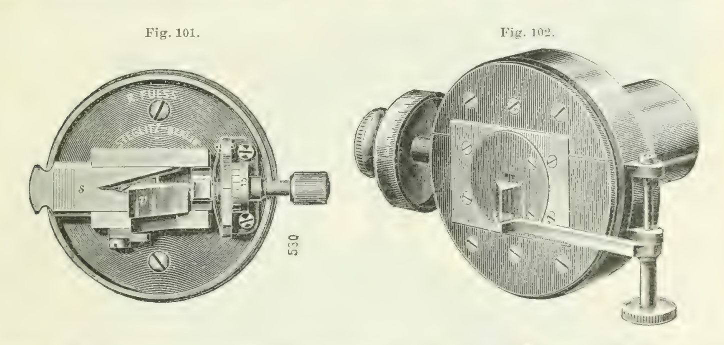
kürzlich Gelegenheit, bei meinen Untersuchungen ein Originalglasgitter von zirka 5000 Furchen pro Zoll, das offenbar sehr sorgfältig hergestellt war, zu prüfen. Leider erwies sich dieses Originalglasgitter als auffallend lichtschwach.

Ein wichtiger Teil des Spektrographen ist der Spalt, durch den das Licht eintritt. Es empfiehlt sich, einen sogenannten symmetrischen Präzisionsspalt zu wählen.[1] Besitzt der Apparat einen unsymmetrischen Spalt (mit nur einer verstellbaren Spaltschneide), so muß man wenigstens bei vergleichenden Untersuchungen stets dieselbe Spaltweite benutzen, denn bei unsymmetrischen Spalten wird durch jede Änderung der Spaltweite die Richtung der optischen Achse des ganzen Systems um ein Geringes verändert, ein Umstand,

[1]) Sehr gute symmetrische Präzisionsspalte liefern u. a. *A. Krüß*-Hamburg und *Schmidt & Haensch*-Berlin.

der auch das Absorptionsbild beeinflußt. — Ein unsymmetrischer Spalt ist in Fig. 101 abgebildet. — Der Spalt bedarf einer sehr sorgfältigen Behandlung. Er muß, solange der Apparat unbenutzt ist, durch Umhüllen mit Stanniol- oder Guttapercha-Papier oder durch Aufsetzen einer dichtschließenden Kappe vor Staub und Feuchtigkeit geschützt und außerdem vor mechanischen Beschädigungen bewahrt werden. Es gibt verschiedene, im übrigen gute Spaltkonstruktionen, bei denen ein einmaliges zu weites Zusammenschrauben der Spaltbacken genügt, um sie zu verderben. Den Spaltschneiden anhaftende Staubteilchen bewirken das Auftreten störender Längslinien im Spektrum. Wenn sie in größerer Zahl auftreten, können sie das Absorptionsbild wesentlich beeinträchtigen, lassen sich freilich nicht immer ganz vermeiden. Bei der Konstruktion des symmetrischen Spalts von *Krüß* entspricht eine Umdrehung der 100teiligen Mikrometerschraube einer Spaltweite von 0·25 *mm*, bei der von *Schmidt & Haensch* eine Umdrehung der 50teiligen Schraube 0·5 *mm*. Fig. 102

Fig. 101. Fig. 102.



zeigt den symmetrischen Präzisionsspalt, der von *Schmidt & Haensch*, Berlin, hergestellt wird.

Die Höhe der Spektrogramme richtet sich nach der Höhe des Spalts. Zu empfehlen ist eine Blendeneinrichtung, durch die man die Spalthöhe nach Belieben verringern kann, z. B. die von *A. Hilger* (London) ausgeführte Keilblende. Betreffs der von *Lockyer* angegebenen Blendeneinrichtung vgl. man den Abschnitt „Die Herstellung der Spektrogramme" unter „*a)* Einzelaufnahmen" u. f.

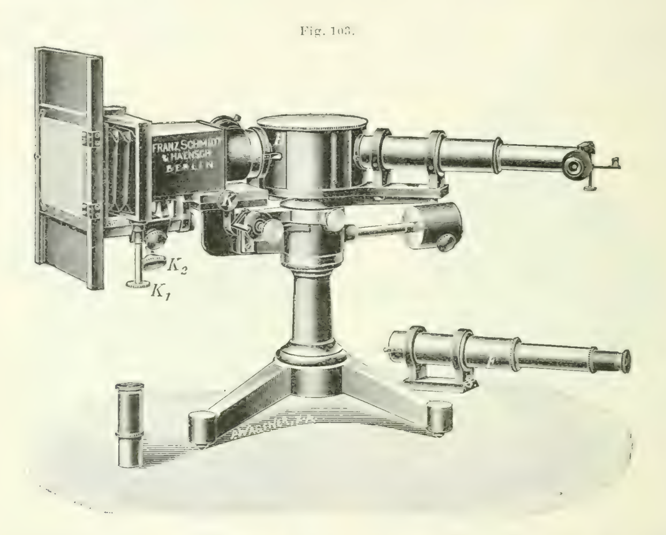
Während die bisher beschriebenen Gitterspektrographen keine Wellenlängenskala besitzen, bringt *A. Krüß* neuerdings an den nach Verfassers Angaben hergestellten Gitterspektrographen mit horizontalem Spalt und *Albrecht-Hüfner*schem Rhombus drei verschiedene, zu den Gittern von ca. 14.500, 7200 und 3600 Furchen passende Wellenlängenskalen an. Ein mit nur einem Gitter und dazu passender Wellenlängenskala ausgestatteter Spektrograph für technische Zwecke ist von *C. E. Kenneth Mees* konstruiert und wird von *A. Hilger* Ltd., London, hergestellt.

b) Prismenspektrographen.

Die bekannteren Typen von Prismenspektrographen weichen nach Konstruktion und Leistung stark voneinander ab. Bei den neueren Typen macht sich das Bestreben geltend, den eigentlichen Spektrographen und die optische Bank zu einem starren Körper zu vereinigen, um die Handhabung des ganzen Apparates einfacher und sicherer zu gestalten.

Für das optische System wählt man zweckmäßig entweder eine Kombination aus einem 60°igen Flintglasprisma und Objektiven von großer Brennweite (für die Kamera vorteilhaft ein „Teleobjektiv") oder ein stark dispergierendes Prismensystem in Verbindung mit Objektiven von geringerer Brennweite.

Fig. 103.



Ein kleiner aus einem gradsichtigen Handspektroskop und einer Spektralkamera bestehender Handspektrograph ist schon vor vielen Jahren von *H. W. Vogel*[1]) angegeben worden. Ein ähnliches, aber außerdem mit einem *Albrecht-Hüfner*schen Rhombus ausgestattetes Instrument ist kürzlich von *Bürker*[2]) beschrieben worden.

---

[1]) *H. W. Vogel,* Beschreibung eines höchst einfachen Apparates, um das Spektrum zu photographieren. Pogg. Annalen. 154. S. 306—307 (1875) und 156. S. 319—325. Vgl. *H. Kayser,* Handbuch der Spektroskopie. Bd. 1. S. 627, wo der Apparat genau beschrieben ist. Die Kamera hat kein besonderes Objektiv, sondern die im Spektroskop vorhandene Linse erzeugt das Bild.

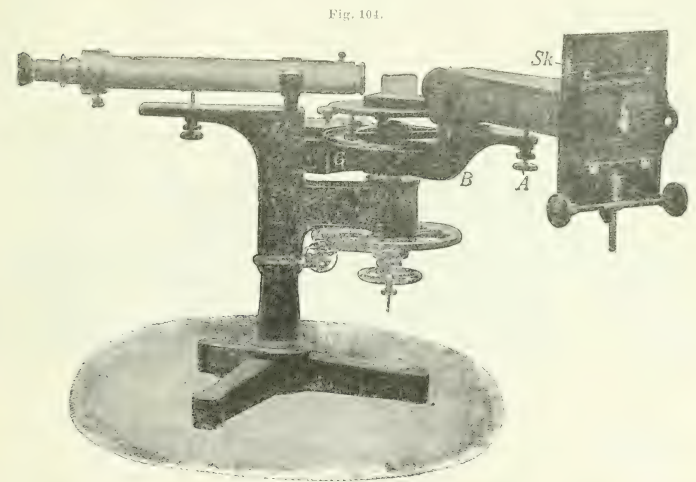
[2]) *K. Bürker*, Ein kleiner Universalspektralapparat. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 63. Heft 4. S. 300—301 (1909). Vgl. hierzu *O. Schumm*, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 64. S. 72 (1910).

In Fig. 103 ist das Modell eines einfachen Prismenspektrographen ohne optische Bank abgebildet, wie er von *Schmidt & Haensch* gebaut wird. Es ist aus dem Bunsenspektroskop der genannten Firma durch Auswechseln des Fernrohres gegen eine Spektralkamera hergerichtet.

Fig. 104 stellt einen von *C. Zeiß*, Jena gebauten Prismenspektrographen ohne optische Bank dar.[1]) Dieselbe Firma baut einen „festarmigen" Spektrographen ohne optische Bank.[2])

Als sehr praktisch darf der von *W. Gummelt*[3]) konstruierte, an anderer Stelle ausführlich beschriebene festarmige Prismenspektrograph mit fester optischer Bank bezeichnet werden, mit dem sich die Spektren in verschiedener Größe darstellen lassen. Dieser in Fig. 105 abgebildete Apparat ist stabil und dabei leicht zu handhaben.

Fig. 104.



Prismenspektrograph nach *F. Löwe*.

Der Strahlengang im *Gummelt*schen Prismenspektrographen ist aus Fig. 106 ersichtlich. Das brechende Prisma „*P*" und das totalreflektierende Prisma „*R*" sind so auf einem Prismentisch befestigt, daß die Stellung beider zueinander sich nicht verändern kann. Der Drehpunkt des Prismensystems ist so gewählt, daß der mittlere reflektierte Strahl im Minimum der Ablenkung steht (vgl. auch die ausführliche Beschreibung in der Originalmitteilung). Man bringt den Prismentisch durch Drehen an der ihn bewe-

[1]) *F. Löwe*, Ein neuer Spektrograph für sichtbares und ultraviolettes Licht. Zeitschr. f. Instrkde. Bd. **26**. S. 330 (1906).

[2]) *F. Löwe*, Zwei Spektralapparate mit fester Ablenkung. Zeitschr. f. Instrkde. Bd. **27**. S. 271 (1907) und Bd. **8**. S. 837 (1907).

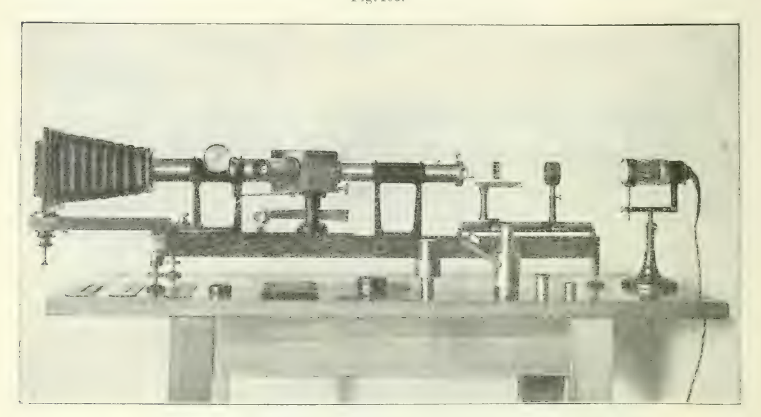
[3]) Beschrieben in *O. Schumm*, Klinische Spektroskopie. S. 44 bis 46. Verlag von G. Fischer, Jena. 1909.

Die Abbildungen sind dem genannten Buche mit freundlicher Genehmigung des Verlages von G. Fischer entnommen worden.

genden Mikrometerschraube in eine solche Stellung, daß das Spektrum den mittleren Teil der Mattscheibe einnimmt. Als Kameraobjektiv benutzt *W. Gummelt* ein Teleobjektiv. Die Kameralänge ist veränderlich. Die Ausdehnung des Spektrums beträgt je nach der gewählten Einstellung der Kamera 18 bis 75 *mm*. Durch Auswechseln der Kamera gegen einen Okularstutzen mit Okular läßt sich der Apparat schnell in ein Spektroskop umwandeln.[1])

Will man die spektrographische Untersuchung bis in diejenigen Teile des Ultraviolett ausdehnen, die dem Flintglasspektrographen nicht zugänglich sind, so bedient man sich entweder der mit einem Gitter oder Prisma ausgestatteten U—V-Glasspektrographen[2]) oder der Quarzspektrographen. Solche Apparate werden von verschiedenen optischen Werkstätten in guter Ausführung hergestellt. Fig. 107 zeigt einen einfachen Quarzspektrographen

Fig. 105.



Prismenspektrograph nach *W. Gummelt*.

ohne optische Bank von *Schmidt & Haensch*, Berlin; Fig. 107*a* einen Quarzspektrographen mit optischer Bank, Absorptionsgefäß und Kondensor von *Fuess*, Steglitz bei Berlin; Fig. 107*b* denselben Apparat ohne optische Bank.

Mit einem größeren Quarzspektrographen *Schumann*scher Konstruktion (von *R. Fuess*) hat *Dhéré*[3]) Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen einer größeren Anzahl physiologisch wichtiger Stoffe im Ultraviolett ausgeführt.

[1]) Eine größere Anzahl mit diesem Apparate hergestellter Spektrogramme ist in der Zeitschrift „Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen" veröffentlicht worden, s. Bd. 15 (1910), Spektraltafel nach Seite 167.

[2]) Mit einem U—V-Prismenspektrographen hergestellte Aufnahmen des Violettstreifens sind in der Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 63, Tafel nach S. 482 veröffentlicht worden. [Vgl. *O. Schumm*, Über den Nachweis von Blutfarbstoff durch seine an der Grenze des sichtbaren Violett liegenden Absorptionsstreifen. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 63. S. 478 (1909).]

[3]) *Charles Dhéré*, Recherches spectrographiques sur l'absorption des rayons ultraviolets par les albuminoides, les protéides et leurs dérivés. Fribourg 1909. Fragnière Frères.

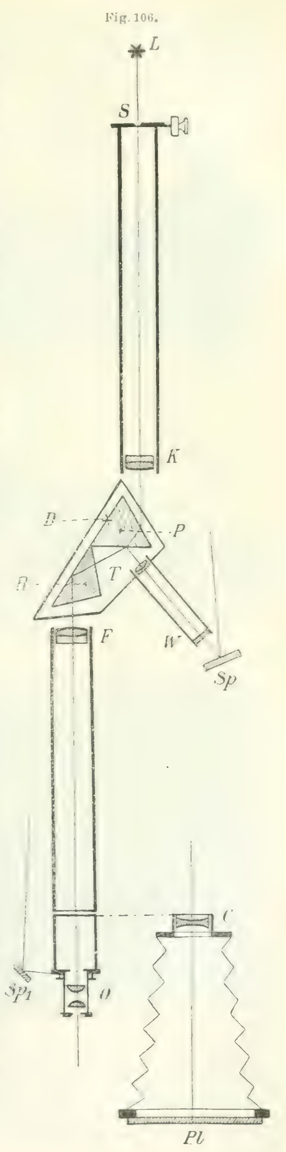
c) Absorptionsgefäße.

Zur Aufnahme der Farbstofflösungen dienen die bei spektroskopischen Untersuchungen üblichen Absorptionsgefäße, die in Fig. 108 in verschiedenen Größen abgebildet sind. Für starke Säuren eignen sich nur Absorptionsgefäße, bei denen die Flüssigkeit nicht mit gekitteten Stellen in Berührung kommt. In solchen Fällen benutzt man gewöhnliche Glaskästen, die aus planparallelen, durch kleine federnde Metallrahmen zusammengehaltenen Glasplatten bestehen (s. Fig. 108, letztes Gefäß rechts). Will man die im Ultraviolett auftretenden Absorptionserscheinungen spektrographieren, so bedient man sich solcher Glaskästen, deren vom Licht durchflossene Wände aus U—V-Glas oder Quarz bestehen. In Fig. 109 ist ein Absorptionsgefäß für meßbar (von 0—15 *mm*) veränderliche Schichtdicke abgebildet, das nach *Marchlewskis* Angaben von *R. Fuess* hergestellt wird. Andere, auch für größere Schichtdicken geeignete Formen von Absorptionsgefäßen werden von *Adam Hilger* (London) und *A. Krüß* (Hamburg) hergestellt.

Die Lichtquellen zur Erzeugung der Spektra.

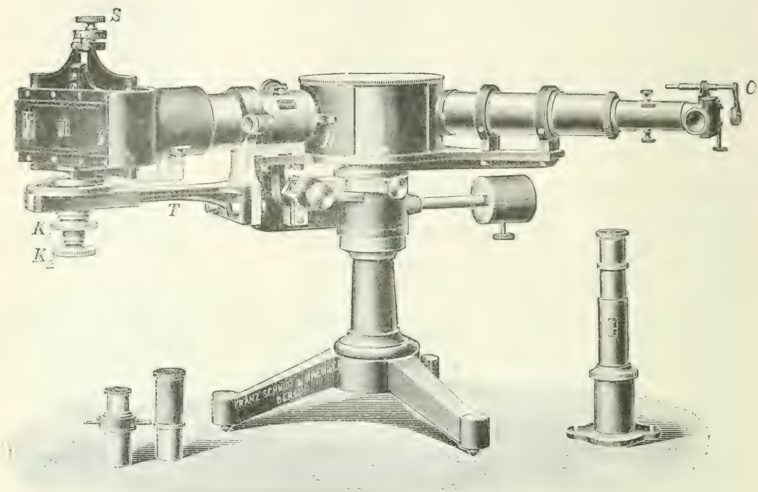
Zur Erzeugung des Heliumlichtes gebraucht man einen Funkeninduktor von 1 bis mehreren Zentimetern Schlagweite, eine geeignete Elektrizitätsquelle (am besten eine Akkumulatorenbatterie von 2 bis 4 Zellen, weniger gut eine Batterie möglichst konstanter Primärelemente) und eine Heliumröhre mit einem Halter, der eine allseitige Bewegung der Röhre gestattet. Wenngleich man die Heliumröhre mit einem Funkeninduktor von etwa 1 *cm* Funkenlänge betreiben kann, so ist ein solcher von mehreren Zentimetern Funkenlänge doch vorteilhafter, da das Licht der Röhre dann heller und die erforderliche Belichtungszeit geringer ist; auch läßt sich das Bild des leuchtenden kapillaren Teils der Röhre (durch den Kondensor) leichter richtig auf die Spaltmitte

Fig. 106.



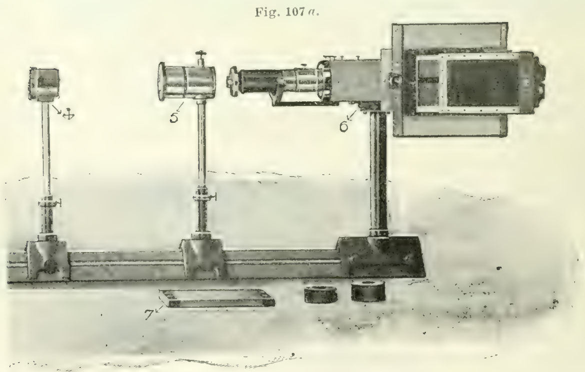
projizieren, als wenn die Kapillare schwächer leuchtet. Der gewöhnliche Federunterbrecher der Funkeninduktoren verursacht ein Geräusch, das auf die Dauer lästig wirkt. Verfasser hat deshalb an seinem Induktor einen *Deprez-*

Fig. 107.



Quarzspektrograph von *Schmidt* und *Haensch*.

Fig. 107 *a*.



Quarzspektrograph von *R. Fuess*.

Unterbrecher angebracht, der viel leiser arbeitet. Ein größerer Induktor bietet auch den Vorteil, daß er schon bei mäßiger Belastung (vielleicht mit $^1/_2$ der maximalen Stromstärke) die Röhre zu genügender Leuchtkraft bringt. Der

Unterbrecher arbeitet bei einem größeren, aber nur schwach belasteten Induktor weit ruhiger und gleichmäßiger als bei einem hochbelasteten kleinen Induktor, dessen Unterbrecherkontakte häufiger verschmelzen und ausgebessert werden müssen.

Wie Verfasser schon an anderer Stelle[1]) angegeben hat, kommen im Handel Heliumröhren vor, die für Meßzwecke nicht geeignet sind. Sorgfältig hergestellte Heliumröhren (von *R. Goetze*, Leipzig), die sich bei der Nachprüfung mit dem Gitterspektrometer als ganz zuverlässig erwiesen, hat Verfasser durch Vermittlung der Firma *Carl Zeiß*, Jena, erhalten (s. Fig. 110 u. 111, in Fig. 111 mit Quarzfenster). Statt des Heliumlichtes kann man auch Wasserstofflicht benutzen, das in Wasserstoffröhren ebenso wie das Heliumlicht erzeugt wird. Das Arbeiten mit dem Heliumlicht ist aber wegen seiner bedeutenden Lichtstärke angenehmer. Die wichtigsten Wasserstofflinien sind $H\alpha$ auf $\mu\mu$ 656·3; $H\beta$ auf $\mu\mu$ 486·1; $H\gamma$ auf $\mu\mu$ 434·1 und $H\delta$ auf $\mu\mu$ 410·2.

Fig. 107.

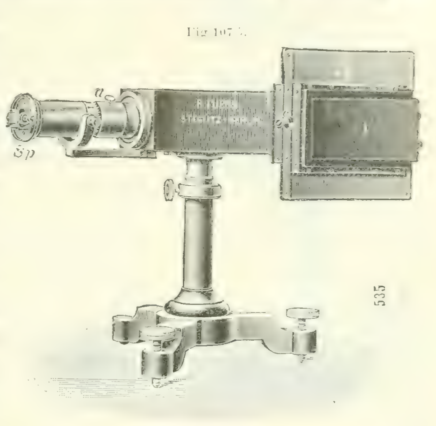
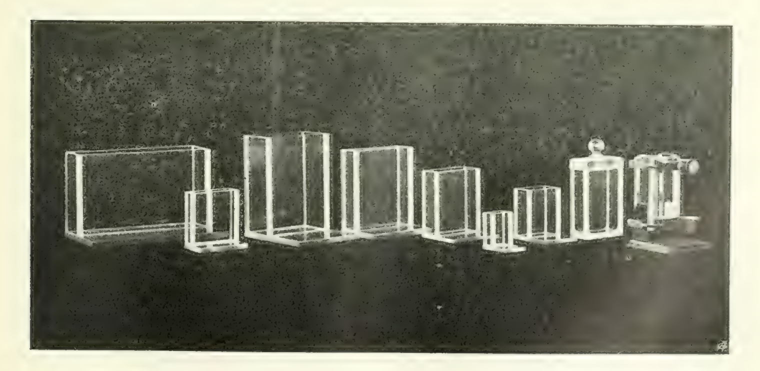


Fig. 108.



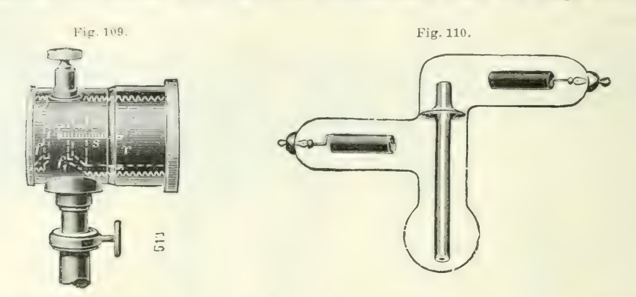
Benutzt man einen Spektrographen mit fester optischer Bank, so befestigt man die Röhre am besten auf einem „Reiter" mit allseitig be-

[1]) *O. Schumm*, Klinische Spektroskopie. S. 30, Fußnote. Verlag von G. Fischer, Jena 1909.

weglicher Klemme (s. Fig. 112). Andernfalls ist ein besonderes Röhrenstativ erforderlich, das zweckmäßig mit einer Einrichtung zur Feineinstellung der Röhre versehen ist. Ein solches, von *R. Fuess*, Steglitz bei Berlin, hergestelltes Stativ ist in Fig. 113 abgebildet.

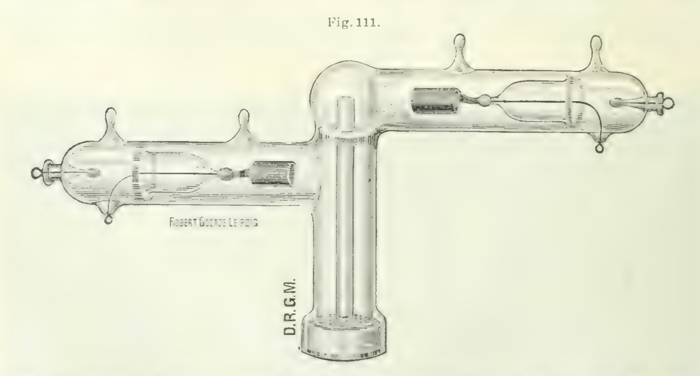
Will man seine Untersuchungen bis weit in das Ultraviolett hinein ausdehnen, so bedient man sich zur Orientierung über die Lage der Ab-

Fig. 109. Fig. 110.



sorptionserscheinungen unter anderem der Emissionsspektra von Metallen oder Metallegierungen, z. B. der Spektren des Eisens, des Kupfers oder der *Eder*schen Legierung.[1] Die Funkenspektra dieser Metalle werden erzeugt, indem man zwischen den einander bis auf einen kleinen Abstand genäherten Metallstiften die durch einen Kondensator verstärkten Funken

Fig. 111.



eines Induktors überspringen läßt und das Funkenlicht durch den Kondensor der optischen Bank auf den Spektrographenspalt projiziert. Eine Einrichtung zur Erzeugung der Funkenspektra, bestehend aus Induktor, Leydener Flaschen und Funkenständer (letzterer in Verbindung mit einem Reiter zum Befestigen auf der optischen Bank), ist in Fig. 114 mit abgebildet.

[1]) Legierung aus gleichen Teilen Zink, Cadmium und Blei.

Fig. 115 zeigt die mit Verfassers Gitterspektrographen auf einer Pinacyanolplatte aufgenommenen Funkenspektra des Eisens und der *Eder*schen Legierung und das Heliumspektrum. Statt der Leydener Flaschen benutzt man neuerdings vielfach einen Ölkondensator, bei dem Petroleum, Öl oder besser flüssiges Paraffin als isolierendes Mittel dient. Der Paraffinkondensator bietet den Vorteil, daß man die Kapazität bis zu der durch die Größe des Kondensators gegebenen oberen Grenze beliebig abstufen kann. Fig. 116 zeigt eine von *W. Gummelt* hergestellte Einrichtung zur Erzeugung der Funkenspektra. Der Ölkondensator steht rechts vom Induktor. Bemerkenswert sind an dieser Einrichtung der Funkenständer, der eine praktische Abänderung eines von *v. Konkoly* angegebenen Funkenständers darstellt, sowie die von *W. Gummelt* herrührende Konstruktion des (auf dem *Deprez*schen Prinzip beruhenden) Unterbrechers, der einen sehr gleichmäßigen Gang hat und gut regulierbar ist.

Fig. 113.

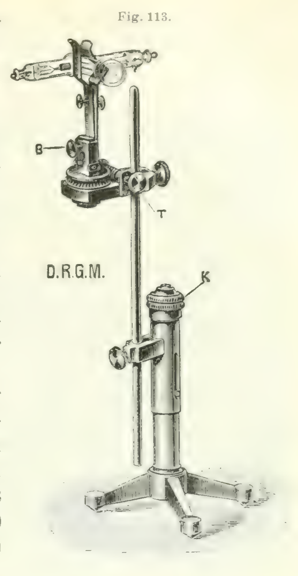


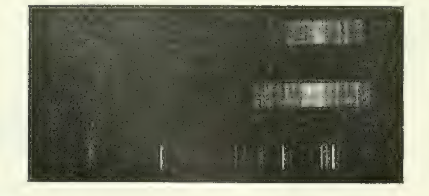
Fig. 112.

Zur Erzeugung der Absorptionsspektra benutzt man eine *Auer*sche Gasglühlichtlampe oder eine Zirkonlampe (Nernstlampe), auch wohl Metall-

Fig. 114.

fadenlampen, z. B. Osramlampen mit U-förmig gebogenem Metallfaden. Verfasser benutzt vorwiegend Nernstlampen. Bei Spektrographen mit fester optischer Bank bringt man die Nernstlampe vorteilhaft auf einem mit Reiter versehenen Halter an, der eine allseitige Bewegung der Lampe gestattet (s. in Fig. 96 u. 97). Besitzt der Spektrograph keine optische Bank, so ist ein besonderes Lampenstativ erforderlich.

Fig. 115.



Nähere Angaben über die Brauchbarkeit und Anwendungsweise verschiedener Lichtquellen für spektrographische Zwecke findet man im Abschnitt „Die Ausführung spektrographischer Untersuchungen".

3. Die photographischen Platten und das zu ihrer Behandlung erforderliche Zubehör.

Exponiert man in einem Spektrographen, dessen Spalt mit weißem (allfarbigen) Licht beleuchtet ist, eine gewöhnliche photographische Platte und entwickelt sie in der üblichen Weise, so zeigt sie ein schwarzes

paralleles Band, ein Spektrogramm, das aber nur einen Teil der exponierten Strecke einnimmt, und zwar denjenigen, der der Einwirkung der kurzwelligen Strahlen ausgesetzt war. Darin kommt die bekannte Tatsache zum Ausdruck, daß die gewöhnliche photographische Platte durch die kurzwelligen Strahlen außerordentlich viel stärker beeinflußt wird als durch die langwelligen. Sie ist daher nur zur Aufnahme der im Blau-Violett auftretenden Absorptionsstreifen verwendbar.

Vogel[1]) hat entdeckt, daß die Reagierfähigkeit (gewöhnlich als Empfindlichkeit bezeichnet) der photographischen Platte gegenüber den lang-

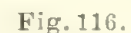


Fig. 116.

Induktor mit Ölkondensator und Funkenständer nach *W. Gummell.*

welligen Strahlen dadurch beträchtlich gesteigert werden kann, daß man sie mit der Lösung eines geeigneten Farbstoffes tränkt. Diese Behandlung der Platten wird als Sensibilisierung bezeichnet, der benutzte Farbstoff als Sensibilisator. Obgleich die Entdeckung *Vogels* weiter verfolgt ist und zu einer bedeutenden Verbesserung der für spektrographische Zwecke erforderlichen Platten geführt hat, so ist doch noch kein Sensibilisator bekannt.

[1]) *H. W. Vogel,* Über die Lichtempfindlichkeit des Bromsilbers für die sogenannten chemisch unwirksamen Strahlen. Ber. d. Deutschen chem. Ges. Bd. **6**. S. 1302—1306 (1873); ferner Pogg. Ann. Bd. **150**. S. 453—459 (1873). Zit. nach *H. Kayser,* Handb. d. Spektroskopie. Bd. **1**. S. 609.

der dem angestrebten Zwecke vollkommen entspricht. Das Ziel könnte praktisch als erreicht gelten, wenn eine Spektralplatte geschaffen wäre, die nach beliebiger Exposition in jedem Zeitpunkt der Entwicklung an allen vom Licht getroffenen Stellen eine gleich starke Reduktion der Silberverbindungen, also gleich starke Schwärzung, zeigen würde. Da eine solche Spektralplatte noch nicht bekannt ist, muß man bei der spektrographischen Darstellung und Untersuchung der Absorptionsspektra die Versuchsbedingungen so einrichten, daß die gekennzeichnete Unvollkommenheit der Spektralplatte, d. i. ihre ungleiche Empfindlichkeit gegenüber den Strahlen verschiedener Wellenlänge, auf irgend eine Weise möglichst unschädlich gemacht wird. Das geschieht in der Hauptsache durch eine richtig gewählte, nicht für alle Fälle vorher bestimmbare Expositionszeit, die Benutzung eines Spektrographen von geeigneter Dispersion, geeignete Entwicklung und eine richtig gewählte Konzentration der zu spektrographierenden Lösung. Während sich die ersten drei Bedingungen im allgemeinen erfüllen lassen, bereitet der Umstand, daß richtige Spektrogramme von stark verdünnten, sehr schwache Absorptionserscheinungen liefernden Lösungen nicht immer zu erzielen sind, gewisse Schwierigkeiten. Wir sind also zurzeit noch gezwungen, das optische System und bis zu einem gewissen Grade auch die zu spektrographierenden Objekte so einzurichten, daß sie der Leistung der Spektralplatte angepaßt sind. Die in dieser Hinsicht günstigsten optischen Systeme sind oben besprochen worden (siehe unter „Spektrograph, optische Bank, Spektroskop“). Im übrigen ist man in der Hauptsache auf eigene Übung und Erfahrung angewiesen, um die nötige Sicherheit in der Herstellung guter Spektrogramme von Absorptionsspektren zu erlangen.

Die einzelnen Sensibilisatoren bewirken eine verschiedenartige Abstimmung der Platten. Zur Aufnahme von Absorptionsspektren, die über das ganze Spektrum verteilte Streifen haben, eignen sich besonders die mit Isokol[1]) sensibilisierten Platten, deren Herstellung von *Lewin*, *Miethe* und *Stenger*[2]) beschrieben worden ist.

Lewin, *Miethe* und *Stenger* benutzten das Isokol in wässeriger Lösung. *Rost*, *Franz* und *Heise*[3]) verwenden eine alkoholische Isokollösung, die nach folgender Vorschrift hergestellt wird:

5 *cm*³	Isokollösung (1 Teil Isokol in 100 Teilen 90volumprozentigem Alkohol),
70 „	Alkohol von 90 Volumprozent,
2 „	Ammoniak (spez. Gew. 0·960),
130 „	destilliertes Wasser.

[1]) *Stenger*, Vergleichende Untersuchung photographischer Gelatineplatten in bezug auf die Farbenwiedergabe. Zeitschr. f. Reproduktionstechnik. H. 3—5 (1906).

[2]) *Lewin*, *Miethe* und *Stenger*, Über die durch Photographie nachweisbaren Eigenschaften der Blutfarbstoffe und anderer Farbstoffe des tierischen Körpers. *Pflügers* Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. **118**. S. 80 (1907).

[3]) l. c.

In dieser Lösung werden gewöhnliche Trockenplatten („Agfa"-Platten der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation in Berlin) 4 Minuten gebadet, dann 3 Minuten in einer Mischung aus 70 cm^3 Alkohol von 90 Volumprozenten und 130 cm^3 destilliertem Wasser gewaschen. Man stellt sie für einige Minuten zum Ablaufen beiseite, entfernt die der Glasseite anhaftenden größeren Flüssigkeitstropfen durch Abwischen mit einem Tuche und trocknet die Platten bei Zimmerwärme und trockener, staubfreier Luft mittelst Ventilators in längstens 30 Minuten. Die sämtlichen Manipulationen müssen bei völligem Lichtabschluß ausgeführt werden. Die angegebenen Flüssigkeitsmengen reichen nach *Rost, Franz* und *Heise* höchstens für 8 Platten vom Format 9 × 12 aus. Mit diesen Platten haben *Rost, Franz* und *Heise* ihre umfangreichen spektrographischen Untersuchungen ausgeführt. Die Leistung dieser Platte wird von der von *W. Gummelt*[1]) angegebenen Spektralplatte noch übertroffen. *W. Gummelt* benutzt die sogenannte R.-T.-Diapositivplatte, die er in der von *Rost, Franz* und *Heise* beschriebenen Art mit alkoholischer, ammoniakhaltiger Isokollösung badet und, ohne sie zu waschen, im Trockenschranke bei 30° (nötigenfalls auch bei geringerer Temperatur) trocknet. Die *Gummelt*sche Spektralplatte eignet sich nach meinen Erfahrungen zu spektrographischen Untersuchungen des Blutfarbstoffes und ähnlicher Farbstoffe in hohem Grade. Man kann damit die über das ganze Spektrum verteilten Absorptionsstreifen verhältnismäßig gut darstellen; sie eignet sich ebensowohl zur Aufnahme der im Rot liegenden Streifen des Methämoglobins, des sauren Hämatins und des Chlorophylls wie zur Aufnahme der im Violett liegenden Streifen des Blutfarbstoffes und seiner Umwandlungsprodukte.

Die Entwicklung dieser Platten ist ziemlich einfach, da sie bei weitem nicht so zur Schleierbildung neigen wie gewisse andere, fertig käufliche Sorten von Spektralplatten.

Zur Darstellung der im dunkleren Rot auftretenden Absorptionserscheinungen eignen sich recht gut die fertig käuflichen Pinacyanolplatten von *Westendorp* und *Wehner*, die für die dunkelroten Strahlen eine besonders hohe Empfindlichkeit besitzen.

In Fig. 117 und 118 sind Aufnahmen des Oxyhämoglobin- und Heliumspektrums [auf der Pinacyanolplatte und auf der Perchromoplatte (panchromatische Spektralplatte nach *Miethe* und *Traube* von *O. Perutz*, München)] reproduziert. Die mit der Pinacyanolplatte hergestellte Aufnahme (Fig. 117) gibt das Spektrum bis etwa $\mu\mu$ 700 gut wieder, während die mit der Perchromoplatte hergestellte Aufnahme die rote Heliumlinie auf $\mu\mu$ 668 nicht erkennen läßt.

Die an sich recht gute „Homokolplatte" gibt das Spektrum nur bis etwa $\mu\mu$ 650 wieder, eignet sich also nicht zur Darstellung der im dunk-

[1]) *W. Gummelt*, Zur Technik der Photographie von Absorptionsspektren. Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen. Bd. **15**. S. 162 (1910).

leren Rot auftretenden Absorptionserscheinungen.[1] Auch die Perchromoplatte ist für das dunklere Rot weniger empfindlich, im übrigen bei geeigneter Handhabung für Spektralaufnahmen verwendbar. Will man lediglich die im Violett und Ultraviolett auftretenden Absorptionserscheinungen aufnehmen, so genügen unter Umständen gewöhnliche Platten. Gute Auf-

Fig. 117.

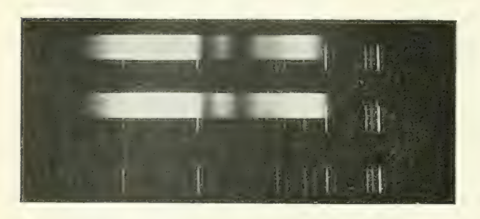


Fig. 118.

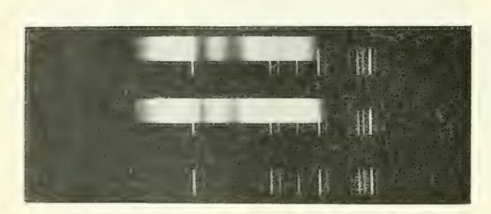
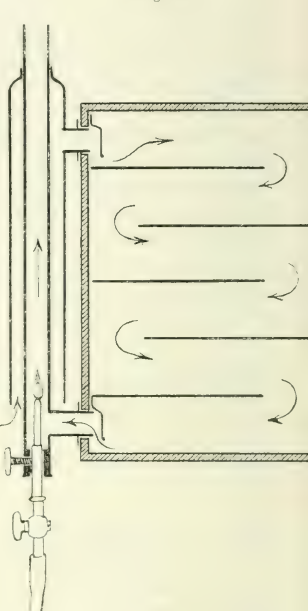
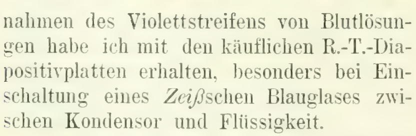


Fig. 119.





nahmen des Violettstreifens von Blutlösungen habe ich mit den käuflichen R.-T.-Diapositivplatten erhalten, besonders bei Einschaltung eines *Zeiß*schen Blauglases zwischen Kondensor und Flüssigkeit.

Einige Hinweise betreffs der Expositionszeiten findet man in dem Kapitel „Ausführung einer spektrographischen Untersuchung".

Ein praktischer lichtdichter Trockenschrank zum Trocknen der gebadeten (sensibilisierten) Platten ist von *v. Konkoly* angegeben worden. Die Konstruktion dieses Trockenschrankes, dessen Kenntnis ich einem freundlichen Hinweise *W. Gummelts* verdanke, ist aus der Fig. 119 ersichtlich, die ihn im Längsschnitt zeigt.[2]

Im übrigen ist das bei gewöhnlichen photographischen Arbeiten übliche Zubehör erforderlich.

---

[1]) Vgl. auch *W. Gummelt*, Isokol und Homokol als Sensibilisatoren für Spektralplatten. Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen. S. 162 (1910).

[2]) Zu beziehen von Dr. *Max Wagner*, Hamburg, Steindamm 152.

4. Die Dunkelkammer.

Wenn die Dunkelkammer groß genug ist, empfiehlt es sich, die ganze spektrographische Einrichtung darin unterzubringen. So ist der Spektrograph während der Aufnahme am sichersten gegen störendes Licht zu schützen. Die Beleuchtungsvorrichtung für das Zimmer richtet man am besten so ein, daß man nach Belieben rotes, grünes oder gewöhnliches Lampenlicht einschalten kann. Für ein großes Zimmer ist eine besondere Lampe (eventuell Deckenlampe) erwünscht, um sich in dem ganzen Zimmer schnell zurechtfinden zu können. Bei der Neueinrichtung eines solchen spektrographischen Laboratoriums empfiehlt es sich, die Lichtleitung mit einem Anschluß zum Laden der Akkumulatoren zu versehen.

Der Spektrograph muß möglichst erschütterungsfrei aufgestellt werden. Die Nachbarschaft größerer Zentrifugen ist sehr störend und muß tunlichst vermieden werden. Es ist von Vorteil, einen Raum zu wählen, in dem eine einigermaßen gleichmäßige mittlere (Zimmer-) Temperatur herrscht. Der Tisch, auf dem der Spektrograph aufgestellt wird, braucht nicht viel größer zu sein, als daß der Spektrograph darauf gut Platz findet. Nebenapparate, z. B. einen größeren Induktor, Kondensatoren u. a. stellt man ebensogut auf einem besonderen Tisch, auch wohl auf Wandstützen auf, doch in genügender Nähe des Spektrographen, um während der Aufnahme z. B. den Unterbrecher des Induktors schnell regulieren zu können. Im einzelnen richtet sich die Ausstattung des spektrographischen Laboratoriums nach den besonderen örtlichen Bedürfnissen.

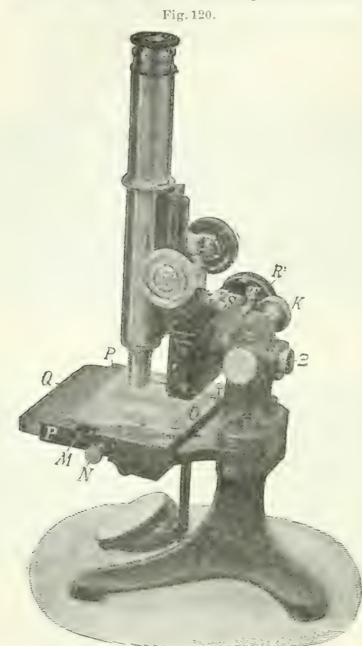
5. Der Meßapparat zur Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen auf den Spektrogrammen.

Die Lage der Absorptionsstreifen im Spektrum läßt sich nach Ausmessung mit einem einfachen Millimetermaßstab oder besser mit einem in halbe Millimeter geteilten Maßstab von Glas schätzungsweise berechnen. Ziemlich genau lassen sich, besonders bei den Gitterspektrogrammen, die Ortsbestimmungen dadurch bewerkstelligen, daß man nach einem Spektrogramm des Heliumlichtes eine Wellenlängenskala herstellt und diese mit dem Absorptionsspektrogramm gleichzeitig kopiert (vgl. auch den Abschnitt „Herstellung der Abdrucke"). Arbeitet man mit Gittern verschiedener Furchenzahl, so muß man natürlich eine zu jedem Gitter passende Wellenlängenskala herstellen.

Besondere spektrogrammetrische Apparate, die genaue Plattenmessungen ermöglichen, werden in verschiedener Ausführung angefertigt, von *Fueß*, Berlin, *Carl Zeiß*, Jena u. a. Diese Apparate besitzen ein durch eine genau gearbeitete Schraube in Schlittenführung bewegliches Mikroskop mit Meßokular (Okular mit Fadenkreuzmarke). Da sie schon seit langem zum Ausmessen von Linienspektren gebräuchlich sind, werden sie gewöhnlich mit einem optischen System ausgerüstet, das eine für die Farbstoffspektrogramme zu starke Vergrößerung liefert. Die optische Werkstätte von *Carl Zeiß*, Jena, rüstet deshalb auf Vorschlag des Verfassers ihre für

diesen Zweck bestimmten Meßmikroskope mit einem besonderen Vergrößerungssystem aus, das eine geringe, übrigens der wechselnden Schärfe der verschiedenen Absorptionsstreifen anzupassende (drei- bis achtfache) Vergrößerung hat. Das *Zeißsche* Instrument stellt in dieser Form einen für die Ausmessung der Spektrogramme sehr geeigneten Apparat dar (vgl. Fig. 120). Ein einfacheres, für viele Zwecke ausreichendes Instrument zum Ausmessen der Spektrogramme und der Abdrucke, bei dem die Einstellungen mit einer schwach vergrößernden Lupe oder mit dem bloßen Auge erfolgen, wird nach Verfassers Angaben von *M. Bekel,* Werkstatt für Präzisionswagen, Hamburg, hergestellt und ist dort unter der Bezeichnung „Plattenmikrometer" erhältlich. Einen Meßapparat, bei dem die Ablesung der Einstellung durch ein Drucken derselben ersetzt wird, ist von *H. Kayser* angegeben und von *Wolz* in Bonn angefertigt worden.[1]) Kürzlich hat *F. Goos,* Hamburg, einen von *Toepfer & Sohn* in Potsdam gebauten Meßapparat für Spektrogramme geprüft und beschrieben, der eine hervorragend genau gearbeitete Meßschraube besaß.[2]) Auch von *A. Hilger* (London) werden derartige Meßapparate angefertigt.

Fig. 120.



Meßmikroskop nach *F. Löwe* von *Carl Zeiß.*

Die Ausführung spektrographischer Untersuchungen.

1. Vorbereitung des Apparates.

Man überzeugt sich zunächst, daß alle Teile des Spektrographen richtig eingestellt sind. Dafür gelten die gleichen Regeln wie für die Justierung der Spektrometer und Präzisionsspektroskope. Das Objektiv des Kollimators muß auf „unendlich" eingestellt und die Gitterfurchen dem Spalt parallel sein. Die Richtung, in der der Kassettenrahmen verschoben wird, muß ebenfalls dem Spalt parallel sein, während der ein langes Rechteck bildende Ausschnitt der nahe der Mattscheibe befindlichen Blende genau rechtwinklig zum Spalt verlaufen soll.

Sind die angegebenen Bedingungen erfüllt und ist die Kamera auf Bildschärfe eingestellt[1]), so müssen (bei Beleuchtung des Spalts mit

[1]) *H. Kayser,* Handbuch der Spektroskopie. Bd. 1. S. 644.

[2]) *F. Goos,* Zeitschr. f. Instrumentenkunde. 1911. 31. Jahrg. S. 52.

Sonnenlicht) in dem auf der Mattscheibe sichtbaren Bilde die *Fraunhofer*schen Linien das Spektum rechtwinklig schneiden. Die Beobachtung der Linien wird erleichtert, wenn man die Mattscheibe hin und her bewegt. Man kann auch ein mit einer geeigneten Fassung versehenes Okular an Stelle der Mattscheibe einsetzen und so das Spektrum in Vergrößerung beobachten. Die Absorptionsstreifen einer vor dem Spalt aufgestellten Farbstofflösung geeigneter Konzentration sollen ebenfalls als das Spektrum rechtwinklig schneidende parallele Banden erscheinen. Da die richtige Einstellung von Spalt und Gitter nicht ganz leicht ist, so empfiehlt es sich, sie an den benachbarten Apparatteilen zu markieren, z. B. durch Striche mit der Reißnadel.

Bei Apparaten mit beliebig verstellbarer Kamera ist darauf zu achten, daß nicht etwa versehentlich das Gitterspektrum II. Ordnung eingestellt wird. Um das zu vermeiden, gibt man der Kamera zuerst eine solche Stellung, daß ihre Längsachse die Verlängerung des Kollimatorrohres bildet. Beleuchtet man den Spalt jetzt mit weißem Licht, so erscheint auf der Mattscheibe das vergrößerte Bild des Spaltes. Man bewegt die Kamera langsam um ihre (mit der Gitterebene zusammenfallende) Drehungsachse, bis das erste Spektrum erschienen ist und den mittleren Teil der Mattscheibe einnimmt. In dieser Stellung ist die Kamera zu befestigen. Würde man sie noch weiter bewegen, dann würde das viel lichtschwächere und für unsere Zwecke nicht so geeignete Spektrum II. Ordnung auf der Mattscheibe erscheinen.

Bei dem oben beschriebenen Gitterspektrographen mit vertikalem Spalt und verstellbarer Kamera muß man, um das rote Ende des Spektrums links auf der Mattscheibe zu haben, die Kamera in die Richtung des Kollimators bringen und sie, indem man gegen die Mattscheibe blickt, nach links drehen. Bei dem abgebildeten Apparat ist die für das Gitter von 14.490 Furchen passende Stellung durch das kleine säulenartige Verbindungsstück so gesichert, daß die Kamera sich nicht im geringten verschieben kann. Will man ein Gitter von anderer Furchenzahl benutzen, so muß man die 2 Verschraubungen lösen und kann dann die Kamera verstellen.

Bei den Prismenspektrographen ist besonders darauf zu achten, daß das Prisma im Minimum der Ablenkung[2]) steht und seine brechende Kante dem Spalt parallel ist.

Endlich überzeuge man sich, daß die Lage der photographischen Platte durch Herausziehen oder Hineinschieben des Kassettenschiebers nicht im geringsten verändert wird.

2. Die Herstellung der Spektrogramme.

a) Einzelaufnahmen und Reihen von Einzelaufnahmen.

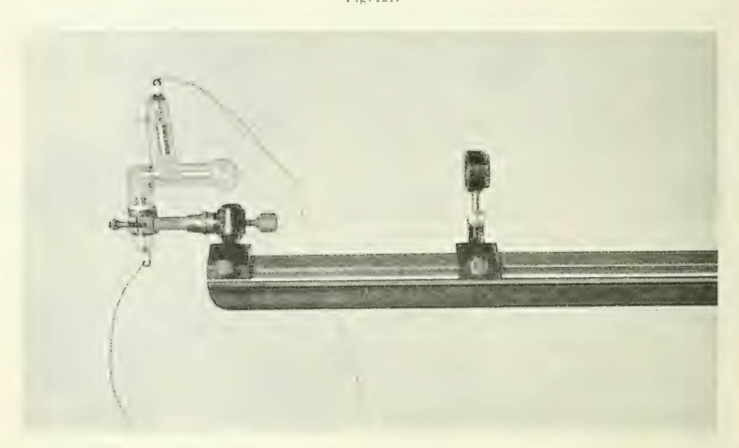
Ist der Spektrograph in Ordnung, so beleuchtet man den Spalt mit Heliumlicht oder einem anderen, ein geeignetes Linienspektrum liefernden

[1]) Die Einstellung auf Bildschärfe erfolgt je nach der Konstruktion der Kamera entweder durch Verschieben des Objektivstutzens oder des Kameraauszugs.

[2]) Vgl. dieserhalb die Spezialwerke über Spektroskopie oder *O. Schumm,* Klinische Spektroskopie 1909, Jena, S. 29.

Licht (z. B. Wasserstofflicht, oder dem Licht der durch einen Kondensator verstärkten Funken, die zwischen Elektroden aus Kupfer, der *Eder*schen Legierung oder anderem Metall übergehen). Für die hier in Betracht kommenden Zwecke dürfte im allgemeinen Heliumlicht genügen. Die starke Leuchtkraft des in den Heliumröhren erzeugten Lichtes bietet die Annehmlichkeit, daß man die richtige Beleuchtung des Spalts besser kontrollieren kann als bei Benutzung von schwächerem Licht. Die Heliumröhren können sowohl in Längsdurchsicht wie auch in Querdurchsicht benutzt werden. Die Aufstellung für Längsdurchsicht zeigt Fig. 121 [1], für Querdurchsicht Fig. 122. (Man muß sich aber durch Untersuchung des von

Fig. 121.



der Röhre ausgesandten Lichtes mit einem Spektrometer oder Präzisionsspektroskop überzeugt haben, daß die Hauptlinien des Spektrums die für das Heliumspektrum bekannte Lage haben. Zunächst kommen in Betracht die Linien auf $\mu\mu$ 667·8 [2]; 587·6; 501·6; 447·2; 388·9.)

Man bringt die Heliumröhre durch Verbindung mit dem Funkeninduktor zum Leuchten und gibt ihr und dem Kondensor eine solche Stellung, daß letzterer das Bild des leuchtenden kapillaren Teils der Röhre mitten auf den Spalt des Spektrographen projiziert. Bei richtiger Einstellung soll der Spalt von dem leuchtenden, linienartigen Bilde der

---

[1]) Der von mir benutzte sehr praktische Röhrenhalter ist von *Schmidt & Haensch*, Berlin, hergestellt worden.

[2]) In einer oft zitierten Abhandlung von *Tschermak* [*Pflüger*s Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. 88. S. 96 (1902)] ist die Wellenlänge dieser roten Heliumlinie irrtümlich zu $\mu\mu$ 688 angegeben, während die Zahl 667·8 durch die neuesten Messungen als richtig bestätigt ist.

Länge nach und zu beiden Seiten gleichmäßig überdeckt sein. Nachdem man sich überzeugt hat, daß die Heliumlinien auf der Mattscheibe scharf und deutlich sichtbar sind, setzt man statt der Mattscheibe die Kassette ein, stellt den Verschluß (am einfachsten ein Blatt schwarzen Karton auf niedriger Holzleiste als Fuß) dicht vor dem Spalt auf den Objekttisch, zieht die Kassette auf, wartet mehrere Sekunden, bis der Apparat nicht im geringsten mehr vibriert, und belichtet durch Fortnehmen des Verschlusses je nach der Intensität des Heliumlichtes, der Spaltweite und der Lichtstärke des Spektrographen etwa 20 oder mehr Sekunden.

In dem oben beschriebenen Gitterspektrographen erhält Verfasser bei Benutzung des Gitters von 14.490 Furchen, einer Spaltweite von 0·03 *mm*,



Fig. 122.

einer durch einen Induktor von ca. 3 *cm* Schlagweite betriebenen *Goetze*schen Heliumröhre und einem Kondensor von 10 *cm* Brennweite auf Isokolplatten gute Heliumspektrogramme, wenn die Expositionszeit 40—45 Sekunden beträgt. Bei 0·05 *mm* Spaltweite genügt eine etwas kürzere Exposition.

Will man das Auswechseln von Nernstlampe und Heliumlampe vermeiden, so kann man die Heliumröhre in der aus Fig. 122 ersichtlichen Weise dicht vor dem Spalt aufstellen und ohne Kondensorlinse benutzen. Bei Nichtgebrauch biegt man den Halter zur Seite. Die Nernstlampe bleibt in dieser Anordnung dauernd in der gleichen Stellung. Da der Kondensor fehlt, ist die Expositionszeit für das Heliumlicht eine längere.

Will man mehrere Spektra auf derselben Platte aufnehmen, so verschiebt man die Kassette bis zur übernächsten Marke des Kassetten-

rahmens, exponiert von neuem usw., bis genügend Heliumspektrogramme aufgenommen sind. Der Kassettenrahmen hat zwischen je 2 Einstellungsmarken für das Helium eine für ein Absorptionsspektrum.

Nachdem die Kassette geschlossen ist, schaltet man statt des Heliumlichtes weißes Licht (Nernstlampe, Auerlampe oder Osramlampe) ein und richtet die Lampe so aus, daß der Spalt passend beleuchtet ist. Benutzt man z. B. die Nernstlampe, so soll das schmale Bild des Stiftes möglichst zentrisch auf den Spalt fallen. Der Spalt erscheint dann als Halbierende in dem ihn überdeckenden grell leuchtenden Bilde des Glühstiftes.

Als Anfänger muß man jetzt die Kassette entfernen und die Mattscheibe einsetzen, um sich zu überzeugen, daß das Spektrum in der erforderlichen Schärfe und Gleichmäßigkeit auf der Mattscheibe sichtbar ist, dann das Gefäß mit der zu spektrographierenden Flüssigkeit vor den Spalt stellen, sich von dem Erscheinen des richtigen, scharfen Absorptionsspektrums überzeugen und erst jetzt die Kassette wieder einsetzen, um nunmehr das Absorptionsspektrum aufzunehmen. Ist das geschehen und sollen weitere Absorptionsspektra auf derselben Platte aufgenommen werden, so muß man mangels genügender Sicherheit und Erfahrung auch diese erst auf der Mattscheibe einstellen, ehe man zur Exposition schreitet. Denn man bedarf erst einiger Übung, ehe man das Gefäß mit der Farbstofflösung so genau richtig vor dem Spalt aufstellen lernt, daß man, ohne vorher eine Kontrolle des Bildes auf der Mattscheibe vorzunehmen, einwandfreie Aufnahmen der Absorptionsspektren herstellt. Die Schwierigkeit liegt darin, daß kleine seitliche Verschiebungen des auf den Spalt projizierten Lampenbildes eintreten können, wenn man das Gefäß mit der Farbstofflösung in den Strahlengang einschaltet. Um das möglichst zu vermeiden, verwende man nur solche Absorptionsgefäße, bei denen die vom Licht durchlaufenen Flächen eben und zueinander parallel sind.

Rost, *Franz* und *Heise* schalten bei Aufnahmen des leeren Spektrums zwischen Kondensor und Spalt ein mit Wasser gefülltes Absorptionsgefäß ein. Durch dieses empfehlenswerte Vorgehen vermeidet man die störende Erscheinung der Überstrahlung.

Sollen die Spektrogramme zu genauen Ortsbestimmungen der Absorptionsstreifen dienen, dann empfiehlt es sich, die Heliumspektren und Absorptionsspektren so anzuordnen, daß die Heliumlinien etwas in die Absorptionsspektren hineinragen.

Es sei an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen, daß die der Verstellbarkeit der Kassette dienende Führung des Kassettenrahmens in sorgfältigster Weise hergestellt sein muß. Andernfalls kann bei dem notwendigen Verschieben des Kassettenrahmens eine seitliche Versetzung eintreten und als Folge davon ein unrichtiges Lageverhältnis von Absorptionsspektrum und Heliumspektrum, das bei späterer Ausmessung des Spektrogramms fehlerhafte Ortsbestimmungen der Absorptionsstreifen ergibt.

Die Aufnahme mehrerer Spektra auf einer Platte läßt sich noch auf einem anderen Wege erreichen, wobei das Verschieben des Kassettenrahmens

fortfällt. Der Spalt muß dann in der von *Lockyer*[1]) angegebenen Art mit beweglichen Schiebern versehen werden, durch die man der Reihe nach die einzelnen Teilstrecken öffnen und schließen kann. Sind z. B. drei gleich hohe Schieber vorhanden, so lassen sich drei verschiedene Spektra von gleicher Höhe aufnehmen, ohne daß die Stellung der Kassette irgendwie geändert zu werden braucht. Selbstverständlich lassen sich durch Anbringen einer größeren Anzahl von Schiebern noch mehr Aufnahmen auf einer Platte herstellen. Derartige Blendeneinrichtungen müssen freilich sehr sorgfältig hergestellt sein. Sie werden von *A. Hilger* (London) angefertigt.

Die Weite des Spalts ist in mehrfacher Hinsicht von Bedeutung. Sie beeinflußt allgemein die Reinheit des Spektrums, demnach sowohl die Schärfe des Linienspektrums als auch des Absorptionsspektrums und außerdem die Expositionszeit. Im allgemeinen dürfte der Satz gelten, daß der Spektrograph das Lichtabsorptionsvermögen der eingeschalteten Flüssigkeit um so genauer analysiert, je enger der Spalt ist. Man wird daher tunlichst bei geringer Spaltweite, etwa 0·03 bis 0·06 *mm*, arbeiten, zumal, wenn es sich darum handelt, Spektrogramme herzustellen, die als Unterlage für wissenschaftlich genaue Ortsbestimmungen der Absorptionsstreifen dienen sollen. Dazu ist freilich notwendig, daß die Spaltschneiden von sehr guter Beschaffenheit sind. Je enger der Spalt ist, desto leichter und stärker machen sich die infolge Auflagerung von Staubteilchen auf die Spaltschneiden entstehenden störenden schwarzen Längslinien (sog. Staublinien) bemerkbar. Da sie nicht immer zu vermeiden sind, darf man an Spektrogramme, die bei engem Spalt hergestellt sind, hinsichtlich des Freiseins von Staublinien nicht so strenge Anforderungen stellen wie bei Spektrogrammen, die bei größerer Spaltbreite hergestellt wurden. Bei geringer Spaltweite hergestellte Spektrogramme dürften, auch wenn sie mit dem Schönheitsfehler einiger Staublinien behaftet sind, in der wissenschaftlichen Spektrographie den Vorzug vor jenen Spektrogrammen verdienen, deren Schönheit nur durch Anwendung einer sehr bedeutenden Spaltweite ermöglicht wurde. *Rost, Franz* und *Heise* haben bei ihren umfangreichen spektrographischen Untersuchungen eine Spaltweite von 0·1 *mm* nicht überschritten. Die vom Verfasser benutzten Gitterspektrographen gestatten die Aufnahmen in den meisten Fällen bei nur 0·03 *mm* Spaltweite.

Als Lichtquelle zur Erzeugung der Absorptionsspektra eignet sich nach meinen Erfahrungen besonders gut die Nernstlampe, so daß ich sie fast ausschließlich benutze. Auch Auerlicht läßt sich verwenden, wie die von *Rost, Franz* und *Heise* veröffentlichten Spektrogramme zeigen. In einem Raume, wo die Lichtleitung fehlt, benutze ich eine mit etwas Überspannung brennende Metallfadenlampe (Osramlampe) mit U-förmig gebogenem Metallfaden, die durch eine Akkumulatorenbatterie gespeist wird. Gelegentlich ist auch Sonnenlicht als Lichtquelle für die Aufnahme der

---

[1]) Vgl. auch „*Baly*, Spektroskopie". Deutsch von *R. Wachsmuth*. S. 40. Verlag von J. Springer, Berlin.

Absorptionsspektren empfohlen worden. Es bietet theoretisch den Vorteil, daß seine (*Fraunhofer*schen) Linien als Meßlinien dienen können und die Aufnahme eines besonderen Linienspektrums, z. B. des Heliumspektrums, entbehrlich machen. Praktisch sind mit der Benutzung des Sonnenlichtes alle Nachteile verknüpft, die einer in ihrer Intensität oft unberechenbaren Schwankungen unterliegenden Lichtquelle anhaften. Außerdem ist das Spektrum des Sonnenlichts insofern Veränderungen unterworfen, als darin zeitweise (außer den gewöhnlichen *Fraunhofer*schen Linien) Gruppen sog. atmosphärischer Linien auftreten, die bei bestimmten atmosphärischen Verhältnissen wie ein Absorptionsband erscheinen. Trifft ihre Lage zufällig mit der eines Absorptionsstreifens der zu spektrographierenden Lösung zusammen, so können sie sehr störend wirken und namentlich die genaue Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen stark beeinträchtigen. Als Lichtquelle zur Erzeugung der Spektrogramme von Farbstoffen darf das Sonnenlicht demnach keineswegs mit dem Licht der Nernstlampe auf eine Stufe gestellt werden. Auch ist die Benutzung des Sonnenlichtes deswegen unbequem, weil man sich bei der Aufstellung des Spektrographen ganz nach der Sonne richten oder ihr Licht durch besondere Apparate auf den Spalt des Spektrographen lenken muß. Aus diesen verschiedenen Gründen kann das Sonnenlicht für die spektrographische Untersuchung von Farbstoffen nur bedingt empfohlen werden. Das zerstreute Tageslicht ist namentlich für die Aufnahmen mit dem Gitterspektrographen zu schwach.

Dagegen läßt sich das Sonnenspektrum nötigenfalls als Vergleichsspektrum an Stelle des Heliumspektrums benutzen. Die Kassette ist in dem Falle so zu stellen, daß das Sonnenspektrum auf der Platte dicht über oder unter dem Farbstoffspektrum liegt. Als Ausgangspunkte für die Ausmessung des Farbstoffspektrums wählt man dann einige der *Fraunhofer*schen Linien, z. B.:

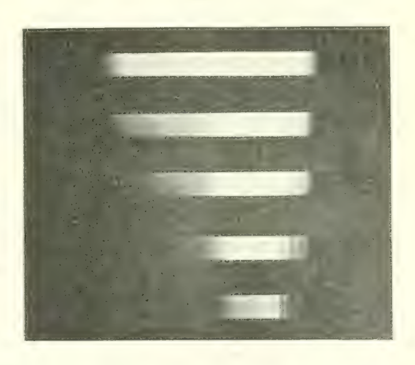
C	= μμ 656·31	F	= μμ 486·15
D_1 [1]	= „ 589·62	G	= „ 430·81 / 430·79
D_2	„ 589·02		
E_1	= „ 527·05 / 527·04	h	= „ 410·19
		H	= „ 396·86
E_2	= „ 526·97	K	= „ 393·38
b_1	= „ 518·38	L	= „ 382·06
b_2	= „ 517·29	M	= „ 372·78 / 372·71
b_3	= „ 516·92 / 516·91	N	= „ 358·13
b_4	= „ 516·77 / 516·75	O	= „ 344·11
		P	= „ 336·13 [2]

[1]) Die mit meinem Gitterspektrographen hergestellten Aufnahmen des Sonnenspektrums lassen die Einzellinien der Paare D und G sowie der Gruppen E und b zum Teil mit dem unbewaffneten Auge, deutlicher bei Lupenbeobachtung erkennen.

[2]) Die angeführten Werte sind größtenteils von *Rowland*, einige von *Kayser* und *Runge* bestimmt; vgl. *Müller-Pouillet*, Lehrbuch der Physik. Bd. 2. 1. Abteilung. S. 345. Braunschweig 1897, bei Fr. Vieweg & Sohn.

Es ist freilich nicht so einfach, gute Aufnahmen des Sonnenspektrums herzustellen. Man projiziert das Sonnenbild mittelst eines allseitig beweglichen Spiegels und der Kondensorlinse so auf den Spalt des Spektrographen, daß er durch das Sonnenbild möglichst gleichartig beleuchtet ist. Das gelingt nur bei einer ganz bestimmten Stellung von Spiegel und Kondensor. Durch genaue Beobachtung des auf der Mattscheibe sichtbaren Spektrums läßt sich einigermaßen kontrollieren, ob der Spalt richtig beleuchtet ist. Da das Sonnenbild wegen der Erdbewegung wandert, ändert sich die Spaltbeleuchtung schnell. Man wählt deshalb kurze Expositionszeiten. Für die Reproduktion mittelst der gebräuchlichsten Vervielfältigungsverfahren eignen sich die Heliumlinien wesentlich besser als die in der Mehrzahl zarteren *Fraunhofer*schen Linien. Man vergleiche die in Fig. 123 reproduzierten Gitterspektrogramme des Sonnenlichtes, die Verfasser in seinem Gitterspektrographen bei $^1/_2$ bis 7 Sekunden Expositionszeit aufgenommen hat, andrerseits die in Fig. 115 reproduzierte Aufnahme des Heliumspektrums. Diese auf einer der besten Spektralplatten hergestellten Aufnahmen des Sonnenspektrums zeigen übrigens deutlich, daß die durch die Mängel des Sensibilisierungsverfahrens bedingten sogenannten Plattenminima nur bei einer bestimmten Expositionszeit einigermaßen unschädlich gemacht werden können.

Fig. 123.



Die Expositionszeiten sind bei Farbstoffspektren so zu wählen, daß die in der nicht ganz gleichmäßigen Empfindlichkeit der Platte gegenüber den Lichtstrahlen verschiedener Wellenlänge begründete Fehlerquelle nach richtiger Entwicklung als ausgeglichen gelten kann. Im übrigen kommt es darauf an, ob man einfach das Lichtabsorptionsvermögen verschiedener Flüssigkeiten vergleichend prüfen will oder ob Spektrogramme hergestellt werden sollen, die nach Möglichkeit die spektroskopisch wahrnehmbaren Lichtabsorptionserscheinungen „schwarz auf weiß" wiedergeben. Im ersten Falle muß man unter gleichen Versuchsbedingungen arbeiten, d. h. bei Benutzung stets gleicher Platten und konstanter Spaltbeleuchtung und Spaltweite eine bestimmte Expositionszeit innehalten; im zweiten Falle muß man die Expositionszeiten nach der Durchlässigkeit der Objekte bemessen, die außerordentlich verschieden ist. Das zeigt sich z. B. sehr deutlich bei der Aufnahme einerseits von Oxyhämoglobinlösungen und Hämochromogenlösungen, andrerseits von Methämoglobinlösungen und alkalischen Hämatinlösungen. Während Ver-

fasser in seinem Gitterspektrographen bei 0·03 *mm* Spaltweite und einer Expositionszeit von 1 Minute von Oxyhämoglobin- und Hämochromogenlösungen Spektrogramme erhielt, die die spektroskopisch wahrgenommenen Absorptionsstreifen scharf und deutlich wiedergaben, erforderten Methämoglobin- und alkalische Hämatinlösungen gleicher Konzentration eine mehrfach größere Expositionszeit. Auch die bei Fällen von Hämatoporphyrinurie entleerten bordeauxroten Harne sind wenig durchlässig und erfordern lange Expositionszeiten.

Gute Aufnahmen der Streifen α und β des Oxyhämoglobins erhält Verfasser in seinem Gitterspektrographen bei Benutzung des Gitters von 14.490 Furchen, der von *Gummelt* angegebenen Platten und der Nernstlampe, wenn normales defibriniertes Blut (vom Menschen oder Pferde) mit 0·1%iger Sodalösung 80—100fach verdünnt und nach dem Filtrieren bei 0·03 *mm* Spaltweite, 1 *cm* Schichtdicke und 1 Minute Expositionszeit spektrographiert wird.

Wie die Mitteilungen von ***Rost, Franz*** und ***Heise*** zeigen, ist bei Anwendung von Auerlicht eine wesentlich längere Expositionszeit nötig, selbst wenn durch weiteres Öffnen des Spalts mehr Licht eingelassen wird; denn *Rost, Franz* und *Heise* exponierten die Platten bei einer Spaltweite von 0·1 *mm* in gewöhnlichen Fällen durchweg 3 Minuten, zur Prüfung des Blutes auf Beimengungen von Methämoglobin bei 0·05 *mm* Spaltweite 7 Minuten.

Diese Beispiele zeigen, daß man hinsichtlich der bei spektrographischen Arbeiten anzuwendenden Expositionszeiten bestimmte Angaben von allgemeiner Gültigkeit nicht machen kann, um so weniger, da die „Lichtstärke“ bei den einzelnen Apparaten verschieden ist und unter anderem durch den Abstand der Lampe und des Kondensors vom Spalt wesentlich beeinflußt wird.

Zur Aufnahme des Heliumspektrums sind bei Verfassers Gitterspektrographen je nach der Belastung des Induktors (von mehreren Zentimetern Funkenlänge) und dem Gange des Unterbrechers bei 0·03 *mm* Spaltweite Expositionszeiten von etwa $^1/_2$—1 Minute erforderlich.

Bei der Entwicklung der Platten muß man sich nach den für die einzelnen Plattensorten geltenden besonderen Vorschriften richten, die den Platten vom Fabrikanten beigelegt werden. Hat man die Aufnahmen auf den mit Isokol sensibilisierten Platten gemacht, so beginnt man mit der Entwicklung am besten im Dunkeln und beobachtet ihren Verlauf dadurch, daß man die Platte von Zeit zu Zeit bei einer Lampe betrachtet, die mit einem Lichtfilter aus den von *Lumière* angegebenen Viridapapieren [1]) versehen ist. Wenn die Platte genügend durchentwickelt ist, so spült man sie in Wasser ab und legt sie in das Fixierbad. Die genannten Platten haben den Vorzug, daß sie bei dieser leicht durchführbaren Behandlung

[1]) 3 Blatt gelbes und 2 Blatt grünes Papier zwischen zwei Glasscheiben vor einer 16kerzigen Glühlampe.

keine Schleierbildung zeigen. Für die Isokolplatten benutzten *Rost*, *Franz* und *Heise* den Metol-Hydrochinonentwickler, der nach folgender Vorschrift hergestellt wird:

Lösung I.		Lösung II.	
Aqua destill.	500	Kal. carbonic.	50
Natr. sulfuros.	50	Aqua destill.	500
Hydrochinon	5		
Metol	1		

Zum Gebrauch: Von Lösung I und II je 1 Teil, Wasser 2 Teile.

W. Gummelt benutzt obigen Metol-Hydrochinonentwickler und auch den nach *Zettnows* Vorschrift hergestellten Pyrogallolentwickler:

Lösung I.		Lösung II.	
Aqua ferv.	460	Natr. carbon.	100
Ac. acet. glac.	5	Aqua destill.	1000
Natr. sulfuros.	200		
Acid. pyrogallic.	28		

Zum Gebrauch von

Lösung I: 1 Teil.
" II: 2 Teile.
Wasser: 3 "

dazu tropfenweise Bromkalilösung (10%).

Verfasser benutzt gewöhnlich den Glyzinentwickler:

Glyzin	60
Natr. sulfuros.	180
Kal. carbonic.	300
Aqua destill.	1200

b) Doppelaufnahmen und Reihen von Doppelaufnahmen.

In besonderen Fällen kann es notwendig sein, zwei Absorptionsspektren gleichzeitig zu photographieren. Für derartige Zwecke eignet sich z. B. der vom Verfasser angegebene Gitterspektrograph mit horizontalem Spalt und *Albrecht-Hüfner*schem Rhombus (siehe Fig. 97). Er gestattet die gleichzeitige Aufnahme zweier Spektren unter gleichen optischen Verhältnissen und dient namentlich dazu, um geringe Unterschiede im absorptiven Verhalten zweier Flüssigkeiten nachzuweisen. Schiebt man den Rhombus zur Seite, so ist der Apparat gleich dem oben beschriebenen Gitterspektrographen mit vertikalem Spalt zu Einzelaufnahmen sowie Reihen von Einzelaufnahmen geeignet.[1])

[1]) *K. Bürker* benutzt zu derartigen Doppelaufnahmen ein mit einem *Albrecht-Hüfner*schen Rhombus ausgestattetes und an eine photographische Kamera angesetztes Handspektroskop. Vgl. *K. Bürker*, Ein kleiner Universalspektralapparat. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **63**. H. 4. S. 300/301. 1909 und *O. Schumm*, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **64**. S. 72. 1910.

Die Anwendung des Rhombus bedingt wesentlich längere Expositionszeiten. Der Kondensor ist bei den Doppelaufnahmen so einzustellen, daß die beiden schrägen Vorderflächen des Rhombus ganz beleuchtet sind. Bei richtiger Stellung der Lampe und des Kondensors muß das Spektrum durch eine feine dunkle Linie symmetrisch geteilt sein, und beide Hälften müssen gleiche Helligkeit aufweisen. Statt zweier Absorptionsspektra kann man natürlich auch ein leeres Spektrum und ein Absorptionsspektrum zu gleicher Zeit aufnehmen und somit gleichzeitig die Plattenkontrolle bezüglich der Empfindlichkeitsminima ausführen. Aus dem Grunde müßte man die Doppelaufnahmen zu allgemeiner Anwendung empfehlen, wenn nicht die Benutzung des Rhombus einen erheblichen Lichtverlust bedingte, der in manchen Fällen stört. Man wird also in den Fällen, wo die *maximale* Lichtstärke notwendig ist, auf Doppelaufnahmen verzichten. Die *nacheinander ausgeführten Einzelaufnahmen* bieten die Möglichkeit ziemlich genauer Vergleiche der Lichtverteilung, wenn der Spektrograph mit einer optischen Bank fest verbunden und dadurch die Erhaltung der Anfangsstellung von Lampe und Kondensor bei mehreren Aufnahmen gesichert ist. Abgesehen von den Belichtungsverhältnissen werden die Doppelaufnahmen ebenso ausgeführt wie Einzelaufnahmen.

3. Die Herstellung der Abdrucke (Kopien oder Positive).

Die Herstellung der Abdrucke erfolgt in der sonst beim Photographieren üblichen Weise, *natürlich unter Vermeidung jeder Retouche*. Will man die Spektrogramme mit einem der oben beschriebenen Meßapparate ausmessen, so ist die Anbringung einer besonderen Wellenlängenskala (außer dem Heliumspektrum) nicht notwendig. Auf den Abdrucken läßt sich eine Wellenlängenteilung recht gut unter Benutzung einer „Kopierskala" anbringen, die folgendermaßen angefertigt wird.

Man zeichnet auf weißen Karton eine äquidistante Skala, in die man zwei (oder mehr[1]) Hauptlinien des Heliumspektrums einträgt, z. B. die beiden Linien auf $\lambda\lambda$ 587·6 und 447·2. Diese Skala muß in solcher Größe photographiert werden, daß der Abstand der beiden Heliumlinien auf dem Negativ der gleiche ist wie auf dem Spektrogramm des Heliumspektrums. Um das zu erreichen, muß man die Entfernung der Vorlage (Karton mit der gezeichneten Skala) von dem photographischen Apparate ändern, bis die Heliumlinien in dem auf der Mattscheibe sichtbaren Bilde denselben Abstand haben wie auf dem Spektrogramm. Wegen der Parallaxe ist die genaue Einstellung nicht ganz leicht. Von dem Negativ stellt man auf einem Filmstreifen ein oder besser mehrere Diapositive her. Ein solches Diapositiv dient als „Kopierskala". In der angegebenen Weise ist die hier

Fig. 124.

700 600 500 400

[1]) Vgl. hierzu die Ausführungen auf S. 431.

(in Fig. 124) abgebildete, zu Verfassers Gitterspektrographen mit vertikalem Spalt gehörige Kopierskala von *W. Gummelt* hergestellt worden.

Um Spektrogramm und Skala zusammen zu kopieren, legt man auf die untere mit Stoff bekleidete Seite des Kopierrahmendeckels ein Blatt Kopierpapier, darüber die Kopierskala so, daß die Ziffern richtig stehen und bedeckt beides so mit dem Negativ, daß dessen Schichtseite dem Kopierpapier anliegt. Nachdem man die Kopierskala in die richtige Lage gerückt hat, überdeckt man das Ganze mit dem leeren Kopierrahmen und befestigt ihn mit seinen Metallfedern. (Bei diesem Vorgehen läßt sich das nachträgliche Verschieben der Skala leicht verhüten.)

Die Prismenspektrographen sind oft so eingerichtet, daß man eine „gespiegelte" Skala gleichzeitig mit dem Absorptionsspektrum photographieren kann. Solche Einrichtungen lassen sich auch an Gitterspektrographen treffen, z. B. stattet *A. Krüß*, Hamburg, den vom Verfasser konstruierten „Gitterspektrographen mit horizontalem Spalt" mit drei verschiedenen zu den auswechselbaren drei Gittern passenden Wellenlängenskalen aus.

Eine größere Genauigkeit der Skalenangaben dürfte aber nach der zuerst beschriebenen Methode erzielt werden, indem man die Wellenlängenteilung auf den Abdrucken durch gleichzeitiges Kopieren von Spektrogramm und Kopierskala anbringt, denn es ist leicht, die als Markierungslinien dienenden Heliumlinien der Kopierskala und des Spektrogramms zur Koinzidenz zu bringen.

4. Die Ausmessung der Spektrogramme; Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen.

Die Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen läßt sich sowohl auf den Negativen als auch auf den Positiven (den Abdrucken der Spektrogramme) ausführen, in letzterem Falle entweder durch Schätzung nach den Intervallen einer mit abgedruckter „Kopierskala" (vgl. d. vorigen Abschnitt) oder genauer durch mikrometrische Ausmessung mit dem vom Verfasser angegebenen oder einem ähnlichen Meßapparat. Die Ausmessung der Negative erfolgt mittelst eines Meßmikroskops oder eines Plattenmikrometers. Sie ist nur möglich, wenn außer dem Absorptionsspektrum noch ein geeignetes Linienspektrum mit aufgenommen worden ist.

a) Verfahren bei Gitterspektrogrammen.

Man befestigt das Spektrogramm (—Negativ) auf dem Objekttisch des Meßmikroskops und verschiebt durch Drehen an der Mikrometerschraube den das Mikroskoprohr tragenden Schlitten, bis das Fadenkreuz des Okulars mit einer der Meßlinien (z. B. der Heliumlinie auf $\mu\mu$ 447·2) zusammenfällt. Man wählt zweckmäßig eine nicht sehr dicke Linie oder stellt bei dickeren Linien das Fadenkreuz auf die Mitte der Linie ein. Nachdem man die Stellung des Schlittens abgelesen hat, verschiebt man ihn, bis das Fadenkreuz des Okulars mit einer geeigneten zweiten Linie des Heliumspektrums zusammenfällt und liest die neue Stellung des Schlittens ab.

Beispiel:

Fadenkreuz eingestellt auf Heliumlinie:	Am Index der Mikrometerteilung abgelesene Stellung des Schlittens:
$\mu\mu$ 447·2	2000
$\mu\mu$ 587·6	4108

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß einer Strecke von 140·4 $\mu\mu$ 2108 Intervalle der Mikrometerteilung entsprechen, also 1 $\mu\mu$ $\frac{2108}{140 \cdot 4} = 15 \cdot 01$.

Einem Absorptionsstreifen entspricht auf dem Spektrogramm (Negativ) eine Lücke oder eine Stelle geringerer Schwärzung. Ihre hellste Stelle entspricht der dunkelsten Stelle eines Absorptionsstreifens. Um sie zu bestimmen, verschiebt man durch Drehen an der Mikrometerschraube den Schlitten, bis das Fadenkreuz die hellste Stelle erreicht hat [1]) und liest die Stellung des Schlittens am Index der Teilung ab. Hat man ihn von der Anfangsstellung (0 = $\mu\mu$ 447·2) z. B. um 750·5 Teile bis zur Stellung 750·5 weiterbewegen müssen, so entspricht die Verschiebung $\frac{750 \cdot 5}{15 \cdot 01} = 50\,\mu\mu$. Der Ort des Absorptionsstreifens (das ist seine dunkelste Stelle) liegt demnach auf $\mu\mu \left.\begin{matrix} 447 \cdot 2 \\ +\,50 \end{matrix}\right\} = \mu\mu\ 497 \cdot 2$.

Um die jedesmalige Ausrechnung zu vermeiden, stellt man sich in folgender Weise eine Kurvenzeichnung her. Man zeichnet auf Millimeterpapier zwei sich rechtwinklig schneidende gerade Linien, die als „Ordinate“ und „Abszisse“ bezeichnet werden mögen. Die Ordinate versieht man mit einer Wellenlängenteilung und die Abszisse mit einer der Mikrometerteilung des Meßmikroskops entsprechenden Teilung. Auf der Ordinate errichtet man in den mit $\mu\mu$ 447·2 und 587·6 und auf der Abzisse in den mit 2000 und 4108 bezeichneten Stellen Senkrechte und verbindet die Schnittpunkte durch eine gerade Linie, die über die Schnittpunkte hinaus weitergeführt wird. Die einer beliebigen Stellung der Mikrometerteilung des Meßmikroskops entsprechende Wellenlänge läßt sich leicht finden, indem man an der gleich bezifferten Stelle der Abszisse eine Senkrechte errichtet und von dem Punkte aus, wo sie die vordem hergestellte Verbindungslinie schneidet, eine zur Abszisse parallele Gerade zieht. Die Stelle, in der diese die Ordinate schneidet, gibt die gesuchte Wellenlänge an. Statt der oben angegebenen Meßlinien kann man auch andere, z. B. die auf $\mu\mu$ 667·8 und 501·6, benutzen.

Wie mir vielfache Versuche ergeben haben, führt die Ausmessung der Kopien (Spektrogramm-Positive) ebenfalls zu befriedigenden Resultaten. Man benutzt dazu das mehrfach erwähnte Plattenmikrometer, mit dem man sowohl bei durchfallendem als auch

---

[1]) *J. Formánek* (Spektralanalyse, II. Auflage, Berlin bei R. Mückenberger, S. 65) bezeichnet die hellste Stelle mit einem kleinen Punkte, verbindet paarweise die über und unter dem Absorptionsstreifen aufgenommenen zueinander gehörigen Meßlinien und mißt die Abstände der Linien voneinander und von dem das Absorptionsmaximum bezeichnenden Punkte.

bei auffallendem Lichte Messungen ausführen kann. Die Kopien werden natürlich bei auffallendem Lichte ausgemessen. Bei Benutzung der zu dem Mikrometer gehörenden 6fach vergrößernden Lupe lassen sich die Einstellungen mit großer Genauigkeit ausführen. Gibt man dem Zeiger eine solche Stellung, daß er die auszumessende Kopie fast berührt, so ist der durch die Parallaxe bedingte Fehler verschwindend gering.

In dem obigen Beispiel gründet sich die Eichung der Mikrometerteilung auf die Messung von nur 2 Linien. Das ist nur dann zulässig, wenn eine annähernd genaue Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen genügt. Diese Einschränkung könnte unberechtigt erscheinen, denn in der einschlägigen Literatur findet sich nicht selten die Angabe, bei dem Gitterspektrum sei die Ablenkung jedes Strahls seiner Wellenlänge proportional, so daß die mikrometrische Ausmessung des Spektrums sofort alle Wellenlängen ergäbe, wenn man nur zwei Spektrallinien von bekannter Wellenlänge auf das Spektrogramm gebracht habe.[1]) *H. Kayser* gibt folgendes an: „Bei den Beugungsspektren dagegen ist die Ablenkung angenähert proportional der Wellenlänge."[2]) — Ich selbst habe Versuche an den mit 4 verschiedenen Gitterspektrographen (mit *Thorp*schen Gitterabzügen von ca. 14.500 Furchen pro engl. Zoll) hergestellten Spektrogrammen des Helium- und des Sonnenlichtes angestellt und gefunden, daß die Abweichungen von der strengen Proportionalität bei genauen Ortsbestimmungen von Absorptionsstreifen beachtet werden müssen. Benützt man für die Eichung z. B. die beiden Heliumlinien $\mu\mu$ 667·8 und 587·6, so ist die danach hergestellte Eichungstafel bzw. -kurve für Blau und Violett nicht genau richtig. Andrerseits zeigt eine Eichungstafel, die auf Grund von Messungen der Linien $\mu\mu$ 447·2 und 388·9 hergestellt wird, für Rot und Gelb merkliche Fehler. Bei der Ausmessung der von *Rost, Franz* und *Heise* hergestellten Gitterspektrogramme[3]) fand ich, wie die nachfolgende Zusammenstellung zeigt, eine analoge Abweichung:

Spektralbezirk	Verfassers Gitterspektrograph I	Gitterspektrograph von *Rost, Franz* und *Heise*
$\mu\mu$ 587·6—501·6	15·08[4]) Mikrometerteile = 1 $\mu\mu$	15·52[4]) Mikrometerteile = 1 $\mu\mu$.
„ 501·6—447·2	14·90 „ = 1 „	15·31 „ = 1 „
„ 447·2—388·9	14·80 „ = 1 „	15·20 „ = 1 „

Bei genaueren Untersuchungen empfiehlt es sich daher, für die einzelnen Bezirke des Spektrums besondere Eichungstafeln oder -Kurven herzustellen. Vier verschiedene Kurven für die Strecken $\mu\mu$ 667·8—587·6, 587·6—501·6, 501·6—447·2, 447·2—388·9 dürften im allgemeinen genügen.

[1]) Vgl. z. B. *E. Baur*, Kurzer Abriß der Spektroskopie und Kolorimetrie. Leipzig 1907, S. 6. Verlag von J. A. Barth.

[2]) *H. Kayser*, Handbuch der Spektroskopie. Bd. 1. S. 448.

[3]) Die Ausmessungen habe ich an einer mehrere Spektrogramme enthaltenden Originalkopie vorgenommen, die ich der Freundlichkeit des Herrn Prof. Dr. *Rost* verdanke. Die in der betreffenden Abhandlung reproduzierten Spektrogramme zeigen dieselbe Erscheinung, sind übrigens um ein Geringes größer als die erwähnte Originalkopie.

[4]) Die bei den beiden Gitterspektrographen bestehenden Unterschiede in der absoluten Größe der Zahlen erklären sich durch Unterschiede der Objektivbrennweiten bzw. der Länge des Spektrums.

b) Verfahren bei Prismenspektrogrammen.

Es unterscheidet sich von dem oben beschriebenen insofern, als man zur Herstellung der Kurve in das Koordinatensystem eine größere Anzahl über das Spektrum verteilter Meßlinien nebst den zugehörigen Werten für die Schlittenstellung eintragen muß. Von den betreffenden Punkten aus errichtet man in der oben angegebenen Weise Senkrechte und verbindet deren Schnittpunkte durch eine Kurve. Die Eichung nach einer größeren Anzahl von Meßlinien ist notwendig, weil die den einzelnen Lichtarten entsprechenden Spektralbezirke sehr verschiedene Länge haben (vgl. das Schema der Farbenverteilung im Prismenspektrum und Gitterspektrum in Fig. 94). Um die einer beliebigen Schlittenstellung entsprechende Wellenlänge zu finden, bedient man sich der Kurvenzeichnung in der im vorigen Absatz beschriebenen Weise.

5. Beispiel einer spektrographischen Untersuchung.

Als Beispiel[1]) diene die Untersuchung eines auf Leinen befindlichen fraglichen Blutflecks. Der etwa 5 Wochen alte braune Fleck wurde halbiert. Die eine Hälfte wurde mit sehr wenig einer schwachen Sodalösung aufgeweicht und soweit mit Sodalösung verdünnt, daß die filtrierte und in einem Absorptionsgefäß von 1 *cm* Schichtdicke vor dem Spalt des Spektrographen aufgestellte Flüssigkeit auf der Mattscheibe deutlich das für sie charakteristische Absorptionsspektrum zeigte. Die andere Hälfte des Blutflecks wurde mit wenig Kalilauge aufgeweicht, nach längerem Stehen mit etwas Wasser verdünnt und filtriert.

Fig. 125.

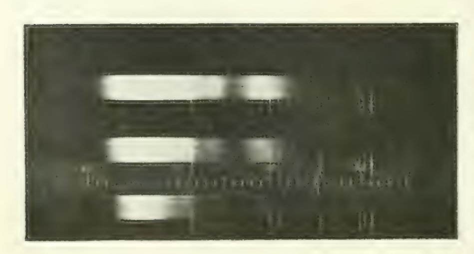
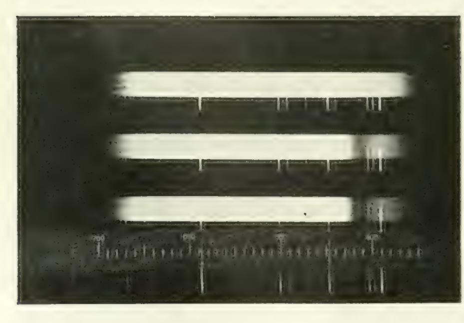


Fig. 126.



Der Sodaauszug wurde sowohl unverdünnt als auch bei 7-, 10- und 15facher Verdünnung und je 1 *cm* Schichtdicke spektrographiert. Der unverdünnte braunrote Auszug war sehr wenig lichtdurchlässig; er

[1]) Vgl. auch *O. Schumm*, Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Oxyhämoglobins im Gitterspektrum. Zeitschr. f. physiol. Chem. 1912.

enthielt alkalisches Methämoglobin und Oxyhämoglobin. Die drei bei $3^{3}/_{4}$, $2^{1}/_{2}$ und $1^{1}/_{2}$ Minuten Expositionszeit erhaltenen Spektrogramme sind in Fig. 125 reproduziert. Die Verdünnungen des Sodaauszugs wurden bei je 65 Sekunden Expositionszeit aufgenommen und lassen den bekannten Violettstreifen mehr oder weniger deutlich erkennen (s. Fig. 126). Zum Vergleich sind in Fig. 127 Aufnahmen des Violettstreifens von sehr verdünnten Lösungen normalen menschlichen Blutes mit und ohne Sodazusatz. (bei 40 und 60 Sekunden Exposition) reproduziert. Nach der Einwirkung gesättigten Schwefelammoniums zeigte der unverdünnte Sodaauszug das Absorptionsspektrum des reduzierten (O-freien) Hämoglobins, und zwar ohne weiteres in einer für die spektrographische Wiedergabe geeigneten Intensität (siehe Fig. 128). Die Expositionszeiten waren $3^{1}/_{2}$, $2^{1}/_{2}$ und $1^{1}/_{2}$ Minuten.

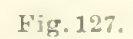


Fig. 127.

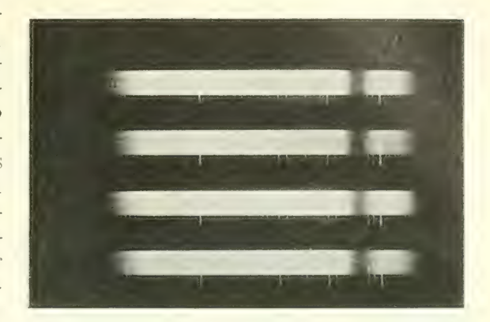


Fig. 128.

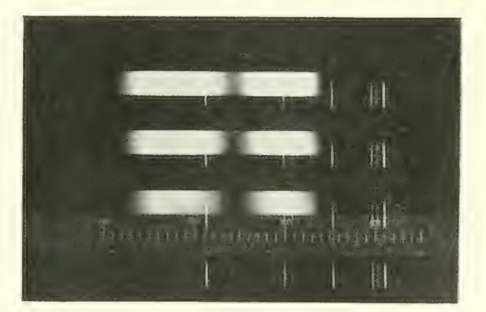
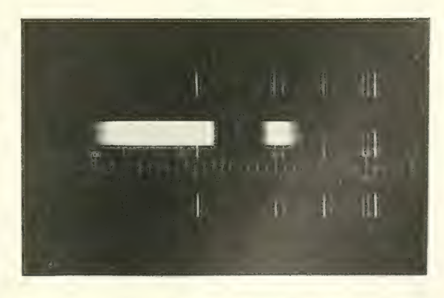


Fig. 129.



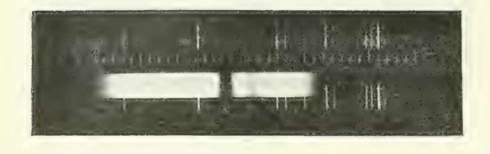
Der durch Behandeln des Blutes mit Kalilauge erhaltene Auszug zeigte das wenig ausgeprägte Spektrum des Hämatins in alkalischer Lösung, nach Zusatz von Schwefelammonium ein sehr starkes Hämochromogenspektrum (siehe Fig. 129); Expositionszeit 3 Minuten bei 0·03 *mm* Spaltweite.

Fig. 130 zeigt das Spektrogramm derselben Flüssigkeit bei geringerer Schichtdicke; Expositionszeit $2^1/_2$ Minuten.

Wer nicht die nötige Übung und Erfahrung besitzt, muß, um die für den fraglichen Farbstoff charakteristischen Absorptionserscheinungen darzustellen, unter Umständen eine größere Anzahl Aufnahmen bei mehreren Verdünnungsstufen oder Schichtdicken machen.

Im vorliegenden Falle genügten die hier reproduzierten Aufnahmen, um den Fleck sicher als Blutfleck ansprechen zu können. Zur genaueren mikrometrischen Ortsbestimmung durch Feststellung des Dunkelheitsmaximums der Absorptionsstreifen würden sich nur einzelne der hier abgebildeten Aufnahmen eignen; z. B. auf der Fig. 130 der zarte zweite Streifen des Hämochromogens, auf der Fig. 128 der Streifen des reduzierten Hämoglobins im oberen Spektrum und allenfalls auf der Fig. 126 im mittleren Spektrum der Violettstreifen. Um diese Bestimmungen des Dunkelheitsmaximums für jeden Absorptionsstreifen ausführen zu können, hätte man größere Konzentrationsreihen herstellen müssen (vgl. das in Abschnitt „Allgemeines“ Gesagte).

Fig. 130.



Genauere Anweisungen zur Ausführung spezieller spektrographisch-chemischer Untersuchungen zu geben, liegt nicht im Plane dieser Abhandlung. Dazu würde auch ein genaueres Eingehen auf die chemisch-spektroskopischen Methoden erforderlich sein.

Über Anwendung der photographischen Methode in der Spektrophotometrie des Blutes.

Von **W. Heubner** (Göttingen).

Einleitung.

Jede Farbe — soweit sie nicht glühenden Körpern zukommt — ist bedingt durch Auslöschung gewisser Anteile des vorhandenen Lichts. In ihrem Spektrum fehlen Strahlenarten, die im ungefärbten Licht vorkommen. Qualität und Intensität der Farbe sind Funktionen der Art der ausgelöschten Strahlen und des Grades ihrer Auslöschung.

Beides läßt sich nur willkürlich trennen. Jedermann weiß, daß in den oberflächlichsten Schichten des Meeres weißes, in tieferen blaues Licht herrscht, am Grunde aber schwarze Nacht ist. Verschiedene Strahlenarten werden eben in verschiedenem Grade ausgelöscht, vom Wasser z. B. die langwelligen Strahlen zuerst, später auch die kurzwelligen. Daher wechselt mit der Schichtdicke einer Farblösung nicht nur die Intensität der Farbe, sondern auch die Qualität: „rote" Blutkörperchen sehen ja unter dem Mikroskop gelb aus.

Für jede einzelne Strahlenart besteht jedoch strenge Gesetzmäßigkeit, insofern der Auslöschungsgrad unter allen Umständen genau proportional ist z. B. der Schichtdicke einer absorbierenden Lösung. Gleiches gilt für die Konzentration eines gelösten Farbstoffes bei gegebener Schichtdicke, da das Produkt aus Konzentration und Schichtdicke nach dem *Beer*schen Gesetz eine Konstante der Absorption ist. Die Spektrophotometrie, die die Intensität von Strahlen bestimmter Wellenlänge vergleicht, ist also die klassische Methode z. B. zur Bestimmung der Konzentration eines Farbstoffes.

Die Qualität einer Farbe läßt sich ebenfalls nur dann durch die Art der ausgelöschten Strahlen definieren, wenn gleichzeitig die Intensität der Auslöschung Berücksichtigung findet. Für praktische Zwecke genügt es zuweilen, durch geeignete Verdünnung einer Farblösung die Intensität so abzustufen, daß bereits bei bloßer Betrachtung des Spektrums einige besonders charakteristische „Absorptionsbanden" auftreten, wie es gewöhnlich bei der Prüfung auf Oxyhämoglobin geschieht. Der wissenschaftlich

exakte Nachweis eines bestimmten Farbstoffs erfordert die möglichst sorgfältige Ermittlung der Absorptions**maxima** und -**minima** nach ihrer Lage im Spektrum. Während ein „Absorptionsband" je nach der Konzentration der untersuchten Lösung breiter oder schmäler sein, d. h. eine „Auslöschung" von mehr oder weniger Strahlenarten anzeigen kann, ist die Lage des **Maximums** der Auslöschung in einem solchen Band ein für allemal eindeutig bestimmt und in der Wellenlänge des ausgelöschten Strahls auszudrücken: diese Zahl ist wirklich **charakteristisch** für einen Farbstoff. Wird sie für sämtliche oder wenigstens einige Maxima und Minima genau ermittelt, so genügt dies meist zur sicheren Identifizierung.

Jedoch vermag das Spektrum einer Farbe noch mehr zu leisten. Handelt es sich z. B. um die in der Physiologie und Pharmakologie des Blutes häufig vorkommende Aufgabe, die **Reinheit** des Oxyhämoglobins oder seine Konzentration **neben** einer zweiten gefärbten Substanz zu bestimmen, so ist es nützlich und selbst notwendig, die feinsten Kriterien heranzuziehen. Sie ergeben sich aus der Tatsache, daß für ein und dieselbe Substanz das **Verhältnis** der Lichtauslöschung in zwei beliebigen Strahlenarten unter allen Umständen konstant ist. Wird also auch eine Strahlenart z. B. 100mal stärker ausgelöscht als eine andere, so bleibt doch das **Verhältnis** 100 : 1 dauernd das gleiche. Die **Quotienten** der Extinktionskoeffizienten an verschiedenen Stellen des Spektrums einer gegebenen Farblösung sind also ebenfalls **charakteristisch** für den Farbstoff. Sind sie für **zwei** reine Farbstoffe genau bekannt, so kann in Mischungen von beiden aus den gleichen Quotienten die relative Menge jedes einzelnen Farbstoffs berechnet werden. Zur Bestimmung der **absoluten** Menge zweier Farbstoffe nebeneinander ist es nötig, für verschiedene Spektralgebiete beider die **Absorptionsverhältnisse** zu kennen, d. h. die Extinktionskoeffizienten für die Einheit der Konzentration.

In allen diesen Fällen der Identifizierung und Reinheitsprüfung eines Farbstoffes, der quantitativen Bestimmung eines Farbstoffs oder zweier nebeneinander handelt es sich also um die Feststellung von **Helligkeitsunterschieden** im Spektrum; niemals ist die sinnlich-physiologische Wahrnehmung der „Farbe" erforderlich. Ja, es sind sogar Andeutungen dafür vorhanden, daß die **Farbenempfindung** die Helligkeitsempfindlichkeit vieler Augen beeinflußt und daß die sichersten Helligkeitsschätzungen im Schwarz-Weißgebiete erfolgen. Eine Transposition der spektralen — also an sich im farbigen Gebiete arbeitenden — Methoden in das Gebiet des unzerlegten **weißen** Lichtes kann daher erhebliche Vorteile bringen.

Prinzipien der Methode.

Eine solche Transposition ist nun möglich mit Hilfe der Photographie. Läßt man das Spektrum einer weißen Lichtquelle auf eine Bromsilbergelatineplatte fallen, die man nach den Regeln der photographischen Kunst entwickelt, so findet man als Resultat seiner Einwirkung bekanntlich einen

geschwärzten Streifen vor: er besteht aus einer großen Zahl feiner Silberteilchen, die in die Gelatine eingebettet sind. Wie das menschliche Auge ist nun aber auch die photographische Platte nicht gleichmäßig empfindlich für Strahlungen verschiedener Wellenlänge; auch deckt sich ja das Gebiet ihrer Empfindlichkeit nicht mit dem des Auges, da ultraviolette Strahlen ebenfalls die Platte schwärzen. Gegen langwelliges Licht sind jedoch gewöhnliche Platten sehr unempfindlich; durch besondere Maßnahmen gelingt es aber, Platten herzustellen, die auch für rotes Licht „sensibilisiert" sind, so daß ihre Empfindlichkeitskurve einen ziemlich stetigen Verlauf vom äußersten Rot bis weit ins Ultraviolette hinein zeigt. Solche Platten sind also für ein viel größeres Spektralgebiet empfindlich als das Auge, wieder ein Moment, das die Überlegenheit der photographischen Methode über die optische bedingt.

Unsere[1]) eigenen Erfahrungen über rotempfindliche Platten erstrecken sich nur auf die panchromatischen Spektrumplatten von *Wratten* and *Wainwright*, Limited, Croydon, England. — Für sehr exakte Arbeiten dürfte es sich empfehlen, solche Platten eigens auf Spiegelglas gießen zu lassen, damit die durch Unebenheiten des gewöhnlichen Glases gelegentlich bedingten Ungleichheiten der Dicke der Gelatinesilberschicht ausgeschaltet werden.

Die Schwärzung einer photographischen Platte — zunächst nur für eine bestimmte Strahlenart — ist eine Funktion der Belichtung. Diese Funktion ist aber nicht einfacher Natur; die richtige Belichtung spielt ja in der photographischen Kunst eine große Rolle. Bis zu einer gewissen Grenze übt schwaches Licht überhaupt keine merkliche Wirkung auf die Platte aus und oberhalb einer zweiten Grenze entspricht einer Verstärkung des Lichts keine Vertiefung der Schwärzung mehr: Der erzeugte Silberniederschlag hat notwendigerweise sein Maximum entsprechend der vorher in der Platte enthaltenen Bromsilbermenge. Zwischen beiden Grenzen entsprechen die Schwärzungsgrade auf der Platte bekanntlich angenähert den Intensitätsverhältnissen des sie erzeugenden Lichtes: unter Umständen können sogar die Helligkeitskontraste auf der Platte dem betrachtenden Auge größer erscheinen als die des Lichtes, das sie erzeugte: dies ist der Fall bei den sogenannten „harten" Platten. Hiermit ist eine weitere Möglichkeit gegeben, mit Hilfe der photographischen Methode über die Leistungsfähigkeit der optischen hinauszugehen.

Die fundamentale Aufgabe, die die Anwendung der Photographie zu photometrischen Zwecken mit sich bringt, ist also die Ermittlung der Funktion zwischen Lichtmenge und Schwärzung der Platte. Als Maß der „Schwärzung", d. h. der Dichte des Silberniederschlags, benutzt man zweckmäßig den Grad der Auslöschung durchfallenden Lichtes. Es handelt sich also darum, die Beziehung zu finden zwischen der auf eine beliebige Stelle der Platte während der Belichtung auftreffenden und der bei der Betrachtung der entwickelten Platte durch die gleiche Stelle absorbierten Lichtmenge. Da die Art der Fabrikation und Entwicklung

---

[1]) *Heubner* und *Rosenberg*, Biochem. Zeitschr. 38. S. 345 (1912).

der Platte die Dichte des Silberniederschlags ebenfalls beeinflußt, so wäre die Aufgabe kaum lösbar, wenn die in Frage kommenden Größen nach ihrem absoluten Betrage ermittelt werden müßten. Dies ist jedoch nicht erforderlich: Jede Photometrie hat ja nichts anderes im Auge als den Vergleich zweier Lichteindrücke und stellt nichts anderes fest als das Verhältnis von Intensitäten. Daher reduziert sich die obengenannte Aufgabe auf die andere: Die Beziehung zu finden, die zwischen dem Verhältnis mehrerer die Platte treffenden Lichtmengen und dem Unterschied der durch sie hervorgerufenen Schwärzungen besteht.

Diese Aufgabe erfordert nichts anderes, als Lichtmengen von genau bekanntem gegenseitigen Verhältnis auf eine Platte wirken zu lassen und die resultierenden Schwärzungen miteinander zu vergleichen. Die Herstellung solcher genau abgestufter Lichtquanten und der Vergleich der Schwärzungen läßt sich durch bestimmte experimentelle Vorkehrungen leicht erreichen. Die gewünschte Beziehung wird schließlich durch eine bestimmte Kurve ausgedrückt, die für jede einzelne Platte zu ermitteln ist. Erst in Gemeinschaft mit dieser zugehörigen „Schwärzungskurve" bildet die Platte samt allen auf ihr verzeichneten Schwärzungen ein vollständiges Protokoll der Lichteindrücke, die sie empfing. Für beliebige Schwärzungsunterschiede läßt sich aus der Kurve ohne weiteres das Verhältnis der entsprechenden Lichtquanten ablesen.

Die Spektrophotometrie einer Farblösung, z. B. lackfarbenen Blutes, erstrebt nun — wie oben ausgeführt wurde — die Kenntnis der Auslöschung (Extinktion) in den verschiedenen Spektralregionen. Sie ist gegeben durch das Verhältnis der Intensität des jeweils einfallenden Lichtstrahls zu der des austretenden. Die Anwendung der photographischen Methode setzt also voraus, daß diese beiden Lichtquanten in Schwärzungen der Platte umgesetzt werden. Es ist also notwendig, das gleiche Licht vor und nach Durchgang durch die zu untersuchende Lösung auf die Platte wirken zu lassen. Weitaus am bequemsten und korrektesten geschieht das durch gleichzeitige Belichtung durch die absorbierende Farblösung hindurch und neben ihr. Für den Blutfarbstoff ergibt sich hier jedoch eine Schwierigkeit: Bei einer Belichtung, Konzentration der Lösung usw., die derartig abgestuft sind, daß die charakteristischen Maxima und Minima des Spektrums etwa den stärksten Schwärzungskontrasten der Platte entsprechen, liegt der Erfolg des ungeschwächt auffallenden Lichts bereits jenseits der oberen Schwärzungsgrenze. Es muß also für eine — genau bekannte — Abschwächung dieses Lichtes gesorgt werden, natürlich ohne daß sich dabei die Farbe ändert; mindestens in den Regionen des Spektrums, die für die Untersuchung des Blutfarbstoffs in Frage kommen, muß die Absorption eine gleichmäßige sein, wenn die Untersuchung nicht unnötig kompliziert werden soll.

Wir haben uns bisher auf die spektrale Absorption des Blutfarbstoffs im Gelb und Grün beschränkt und dabei zur Abschwächung des „einfallenden" Lichtes eine photographische Platte von bestimmter gleichmäßiger Schwärzung geeignet gefunden.

Für die ultraviolette Absorption des Blutfarbstoffs ist nicht ohne weiteres das gleiche gültig. Dafür müßte erst die Absorption der vorgeschalteten Platte für sich genau festgestellt werden. Falls sie in jenen Spektralgebieten nicht mehr gleichmäßig sein sollte, so müßte der Verlauf der ungleichmäßigen Absorption von Wellenlänge zu Wellenlänge sorgfältig ermittelt werden. Dann erst wäre es möglich, überall die richtige Korrektur anzubringen.

Ein solches Absorptionsglas löscht also von jedem beliebigen Lichte einen ganz bestimmten Bruchteil aus. Dieser Bruchteil muß bekannt sein, da es ja auf die Kenntnis des einfallenden Lichtes ankommt. Eine Aufgabe für sich bildet also die Bestimmung dieser Größe durch vergleichende Photometrie des einfallenden und des abgeschwächten Lichts nach entsprechender photographischer Aufnahme. Ist der Betrag einmal ermittelt, so behält er seine Gültigkeit, so lange das gleiche Absorptionsglas in Benutzung bleibt.

Kurze Übersicht der technischen Einzelheiten.

Es sind demnach bei der photographischen Methode der Spektrophotometrie des Blutes folgende einzelnen Prozeduren zu unterscheiden:

A. Ermittlung der Schwärzungskurve (für jede Platte).

B. Ermittlung der Korrektur für die partielle Auslöschung des einfallenden Lichtstrahls durch das Absorptionsglas (nur einmal für eine bestimmte Versuchsanordnung).

C. Photographische Aufnahme der zu untersuchenden Blutspektren.

D. Ausmessung der aufgenommenen Spektren.

In zeitlicher Reihenfolge ergeben sich im einzelnen folgende Phasen für die einzelne Platte (unter Ausschaltung der Prozedur *B*):

I. Aufnahmen für die Darstellung der Schwärzungskurve.

II. Aufnahme der Blutspektra mit den zugehörigen Vergleichsspektren.

(I. und II. kann natürlich vertauscht werden.)

III. Entwickeln, Fixieren, Auswaschen und Trocknen der Platte.

IV. Ausmessen der gesamten Platte.

V. Berechnen der Schwärzungskurve.

VI. Berechnen der erhaltenen Untersuchungsresultate.

Die Trennung von Fixierung des Befundes, Messung und Berechnung ist ein weiterer Vorzug der Methode; sie ist sehr objektiv.

An Einrichtungen und Instrumentarien sind erforderlich:

1. Ein vollkommen dichtes Dunkelzimmer.

1*a*) In demselben, oder in einer besonderen Dunkelkammer zum Entwickeln der Platten: Vorrichtung zur Zeitbestimmung im Dunkeln (Metronom, Sekundenpendel od. dgl.), ferner zur gleichmäßigen Bewegung der Platten im Entwickler; beide können vereint sein.

Wir benutzten einen kleinen zur Aufnahme der Entwicklerschale geeigneten Tisch, der durch ein schweres Sekundenpendel in wiegende Bewegung versetzt wurde.

2. Eine Einrichtung, um die Intensität der Lichtquelle meßbar zu variieren.

Es ließen sich verschiedene brauchbare Anordnungen denken: als fehlerlos und verhältnismäßig einfach erschien uns die Variation der Intensität durch Änderung der Entfernung zwischen Platte und konstanter Lichtquelle. Für eine bequeme Einstellung diente

2*a)* eine optische Bank mit Millimeterteilung,

als konstante Lichtquelle:

2*b)* eine *Scheiner*sche Benzinkerze (Bezugsquelle: *Otto Toepfer & Sohn*, Potsdam).

3. Zur Erzeugung einfarbigen Lichtes:

ein monochromatic Filter = mit der Durchlässigkeitszone zwischen 510 bis 550 $\mu\mu$ (Bezugsquelle: *Wratten & Wainwright*, Croydon, England).

Es paßt speziell nur für Untersuchungen in der betreffenden Spektralregion, also z. B. die Gelbgrünabsorption des Blutfarbstoffs. Für andere Regionen sind die entsprechenden Filter zu wählen.

4. Ein Spektrograph.

Wir benutzten einen solchen mit horizontalem Spalt und einer Gitterkopie von *Thorp* (Bezugsquelle: *Spindler & Hoyer*, Göttingen).

Die Kassette des Spektrographen ist hinter einer schlitzförmigen Blende senkrecht zur Längsausdehnung des Spektrums verschieblich, damit auf ein und dieselbe Platte eine größere Zahl Spektra nacheinander aufgenommen werden können. An beliebiger Stelle trägt die — mit Spalt und Gitter fest verbundene — schlitzförmige Blende eine Marke, die ein für allemal bei einer bestimmten Wellenlänge des Spektrums liegt. Die Bestimmung dieser Lage erfolgt durch Aufnahme eines bekannten Linien- oder des Sonnenspektrums und Ausmessung der Abstände zwischen Linien und Marke auf der Platte.

5. Ein *Hartmann*sches Mikrophotometer mit Koordinatenmeßapparat nach *H. Rosenberg* (Bezugsquelle: *Otto Toepfer & Sohn*, Potsdam).

6. Wünschenswert ist als Hilfsapparat:

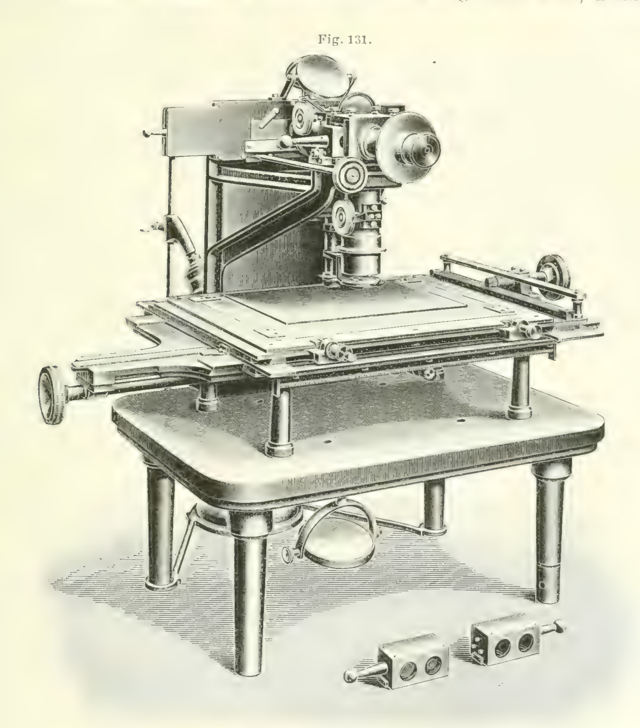
ein *Scheiner*sches Sensitometer (Bezugsquelle: *Otto Toepfer & Sohn*, Potsdam).

Beschreibung des Mikrophotometers.

Zur Beurteilung der verschiedenen auf einer Platte vorhandenen Schwärzungen bedarf man irgendeiner Schwärzungsskala, die mit der Platte verglichen wird. Am zweckmäßigsten bedient man sich dazu eines sogenannten „photographischen Keils“, d. h. einer streifenförmigen photographischen Platte, die in ihrer Längsausdehnung alle Schwärzungsgrade — von den schwächsten bis zu den kräftigsten — in kontinuierlicher Folge aufweist, während die Schwärzung in der dazu senkrechten Richtung für jede Stelle des Keils konstant ist. Jede beliebige zu bestimmende Schwärzung ist dann gleich einer anderen an einer bestimmten Stelle des Keiles liegenden Schwärzung, die durch ihre Entfernung von einem auf dem Keil beliebig zu wählenden Nullpunkt in Längeneinheiten eindeutig angegeben werden kann. Eine in diesen Einheiten ausgedrückte Skala gibt

dann aber nicht mehr direkte Schwärzungsunterschiede an, sondern man kann nur soviel sagen, daß die Keilablesungen eine stetige Funktion der Schwärzungen sein werden und daß zu größeren Argumentwerten auch größere Funktionswerte gehören. Es kommt jedoch gar nicht darauf an, die Schwärzung selbst zu kennen; da der Zusammenhang zwischen Lichtintensität und Schwärzung aus den zu diesem Zweck auf der gleichen Platte eigens vorhandenen Kontrollaufnahmen abgeleitet wird, können die

Fig. 131.



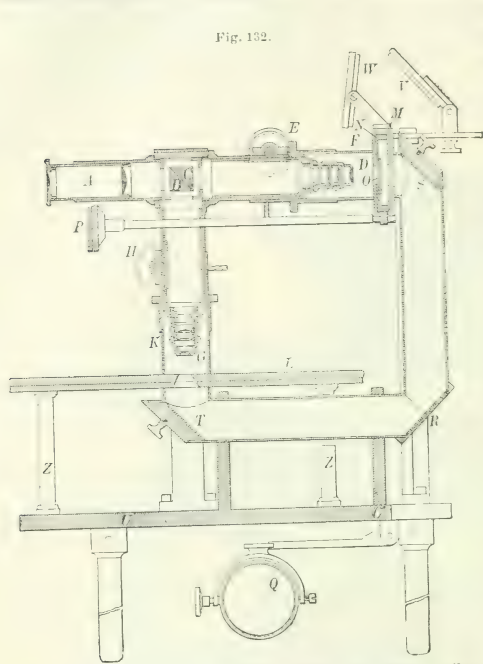
Schwärzungen in der willkürlichen Längenskala des Keiles ausgedrückt werden.

Derartige „Keile“ lassen sich leicht aus jeder photographischen Platte herstellen mit Hilfe des *Scheiner*schen Sensitometers, das auf dem Prinzip der rotierenden Blende beruht.

Zum Vergleichen der Schwärzungen auf den zu untersuchenden Platten mit denjenigen des photographischen Keils dient das Mikrophotometer.

Das Prinzip des *Hartmann*schen Mikrophotometers besteht darin, die zu vergleichenden Schwärzungen von Platte und Keil in dem Gesichtsfelde eines Mikroskopes in scharfer Trennungslinie aneinander grenzen zu lassen, d. h. unter Verhältnissen, wo Helligkeitsdifferenzen vom Auge am schärfsten aufgefaßt werden. Erreicht wird dieser Zweck dadurch, daß Strahlen ein und derselben Lichtquelle auf zwei verschiedenen Wegen von genau gleicher Weglänge und durch genau gleichartige Medien in das Auge gelangen; dabei passiert das Licht auf dem einen Wege die zu messende Platte, auf dem anderen den als Messungsskala dienenden photographischen Keil. Mit Hilfe zweier identischer Mikroskop-Objektive und eines *Lummer-Brodhun*schen Würfels werden vergrößerte, reelle Bilder der beiden Gelatine-Silberschichten in einer Ebene abgebildet und durch ein gemeinsames Mikroskopokular betrachtet. Dabei erscheint der an dem kleinen Spiegel des *Lummer-Brodhun*-Prismas reflektierte Ausschnitt der zu messenden Platte als isolierter, scharf begrenzter Fleck mitten im Gesichtsfeld, das durch einen Teil des Keilbildes ausgefüllt wird.

Fig. 132.



A ist das Okular, *B* und *C* die beiden Hälften des *Lummer-Brodhun*-Würfels, *H* und *E* die Triebschrauben zur Focusierung der beiden Mikroskopobjektive *D* und *G*. Der photographische Keil *O* wird durch den Trieb *P* in der Fassung *M* verschoben, die Verschiebung an dem Nonius *N* abgelesen. Die zu messende Platte liegt auf dem Tisch *L*. Um Platte und Keil vor falschem, von der Vorderseite auffallendem Licht zu schützen, ist der Zwischenraum zwischen Mikroskopobjektiv und Platte resp. Keil durch die beiden Rohrstutzen *F* und *K* lichtdicht abgeschlossen. Zur Beleuchtung dient eine künstliche Lichtquelle, die direkt hinter der dünnen durchscheinenden weißen Porzellanplatte *R* aufgestellt wird; durch Reflexion an den Spiegeln *S* und *T* gelangt das Licht zum Keil resp. zur Platte. Die Spiegel *V* und *W* dienen zur Beleuchtung des Nonius.

Die Messung einer beliebigen Schwärzung geht nun in der Weise vor sich, daß man durch Verschieben des Keiles vor dem einen Mikroskopobjektiv das Gesichtsfeld um den kleinen, durch den Spiegel verursachten Ausschnitt herum auf die gleiche Helligkeit zu bringen sucht, wie

den im Spiegel abgebildeten Teil der untersuchten Platte. Es gelingt dies mit recht großer Sicherheit, da bei tatsächlich vorhandener Intensitätsgleichheit die Trennungslinie zwischen Untergrund und Photometerfleck vollständig verschwindet und das ganze Gesichtsfeld gleichmäßig erhellt erscheint; bei nicht korrekter Einstellung hingegen hebt sich das Bild der Platte hell oder dunkel von dem Untergrunde ab. Die Längsverschiebung des Keils kann mit Hilfe eines Nonius an einer Längenteilung bis auf 0·1 *mm* genau abgelesen werden.

Der Spiegel des *Lummer-Brodhun*-Prismas hat zweckmäßig die Form eines schmalen Rechtecks, dessen Längsausdehnung senkrecht zur Längsausdehnung des auszumessenden Spektrums, also parallel der Spaltrichtung des Spektrographen steht.

Die Platte selbst ruht auf einem großen Kreuztisch: Der Rahmen, in den die Platte gelegt wird, läßt sich durch zwei Triebschrauben in zwei zueinander senkrechten Richtungen verschieben; jede Stellung des Rahmens ist durch Noniusablesung an zwei Maßstäben bis auf 0.1 *mm* Genauigkeit für beide Koordinaten der Fläche genau anzugeben. (Die Einrichtung entspricht einem vergrößerten Objektkreuztisch für Mikroskope.) Innerhalb des Rahmens erlaubt eine besondere Feineinstellung jede Platte ganz exakt in der Weise zu orientieren, daß die Verschiebung des Rahmens auf dem Kreuztisch genau in der Längsrichtung der aufgenommenen Spektra und senkrecht dazu erfolgt.

Die beiden Abbildungen (Fig. 131 und 132, S. 441 und 442) geben den Anblick des ganzen Instrumentes und zeigen auch den Weg des Strahlenganges.

Aufnahmen für die Darstellung der Schwärzungskurve.

Die Kassette mit der zu untersuchenden (rotempfindlichen) Platte wird auf der optischen Bank in einer Führung mit schlitzförmiger Blende montiert. Die Blende selbst wird mit einem ungleichmäßig geschwärzten Absorptionsglas versehen, damit eine einzige Aufnahme bereits möglichst viel verschiedene Schwärzungsgrade erzeugt. Sehr geeignet ist dazu eine photographische Schwärzungsskala, die aus jeder photographischen Platte mit Hilfe des *Scheiner*schen Sensitometers, und zwar mit der von *Eder* eingeführten Scheibe mit eckigen Ausschnitten zu erzeugen ist. Man erhält eine größere Anzahl aneinander grenzender, verschieden geschwärzter Felder in sukzessiver Steigerung von Glasklarheit bis zu völliger Undurchsichtigkeit.

Die *Scheiner*sche Benzinkerze wird mit einem völlig lichtdichten Mantel versehen, der ein einziges, durch das grüne Lichtfilter ε (*Wratten & Wainwright*) gebildetes Diaphragma besitzt, daneben nur noch einen kleinen Ausschnitt zur Kontrolle der Flammenhöhe. Die Kerze wird in der Entfernung 1000 *mm* von der Platte aufgestellt, die darauf genau 30 Mi-

nuten lang belichtet wird. Nach Verschiebung der Platte um die Breite der schlitzförmigen Blende erfolgt die zweite gleichlange Exposition bei 634·5, die dritte bei 403 *mm* Entfernung. (Die logarithmische Helligkeitsdifferenz zweier aufeinanderfolgender Stellungen ist dann gleich 0.400.)

Die lange Expositionsdauer ist dadurch bedingt, daß der heutige Stand unserer Kenntnisse es erfordert, für eine korrekte Darstellung der Schwärzungskurve zum Zwecke spektraler Untersuchungen das Licht eines relativ engen Spektralbezirkes zu benutzen. Es ist zu hoffen, daß ein genaueres Studium des Zusammenhangs der Schwärzungskurven für monochromatisches und weißes Lichts dazu führen wird, aus einer mit weißem Licht gewonnenen Schwärzungskurve den Verlauf der Kurve für jede einzelne Spektralregion zu berechnen. Dann würden natürlich die Expositionszeiten für die Aufnahme der Schwärzungskurve ganz erheblich reduziert werden können.

Aufnahmen von Blutspektren.

Zu völlig einwandfreien Aufnahmen wird man kaum ohne vorheriges Ausprobieren gelangen. Stärke und Entfernung der Lichtquelle, Expositionszeit, Schwärze des Absorptionsglases, Spaltbreite des Spektrographen, Konzentration und Schichtdicke der Blutlösung müssen richtig abgestuft sein, damit vollendete Spektralbilder gewonnen werden. Als Anhalt mögen folgende Maße dienen, die sich uns bewährt haben:

Blutlösung 2 bis 300mal verdünnt bei zirka 2 *cm* Schichtdicke.

Allgemeiner: Schichtdicke (in Zentimetern) mal Konzentration an Blut (in Kubikzentimetern pro Kubikzentimeter) = 0·005—0·01; also Schichtdicke mal Konzentration an Blutfarbstoff (in Grammen pro Kubikzentimeter) um 0·001 *cm* herum. Für eine 1%ige Oxyhämoglobinlösung ist etwa 1 *mm* Schichtdicke passend, für konzentriertere weniger, für verdünntere umgekehrt.

Spaltweite 0·05 *mm*.

50kerzige Nernstlampe in 22 *cm* Entfernung vom Spalt; 4 *cm* vor dem Spalt eine Sammellinse von 18 *cm* Brennweite.

Belichtung 40 Sekunden.

Erforderlich ist die Benutzung einer Doppelcuvette, deren gesamte Breite gleich der Länge des Spaltes ist, während ihre Längsausdehnung (in der Richtung der Lichtstrahlen) natürlich in beiden Kammern genau gleich sein muß. Die eine Kammer dient zur Aufnahme der Blutlösung, die zweite zur Aufnahme des Verdünnungsmittels. Nach *Hüfner* eignet sich als solches besonders eine 0·1%ige Lösung von (trockenem) Natriumkarbonat. Die farbstoffhaltige Kammer wird möglichst nah vor die freie Hälfte des Spaltes gesetzt, während seine andere, hinter der zweiten Kammer befindliche Hälfte durch das neutrale Absorptionsglas bedeckt ist. So tritt das weiße Vergleichslicht abgeschwächt neben dem gefärbten in den Spektrographen. Jede Aufnahme liefert also 2 nebeneinanderliegende Spektrogramme.

Für Reihenversuche empfiehlt es sich, das Absorptionsglas unverrückbar vor der einen Spalthälfte zu fixieren, sowie ein Tischchen mit Anschlag für die Aufnahme der Cuvette ebenfalls in fixierter Stellung vor dem Spektrographen zu benutzen. Auch Lichtquelle und Linse können in gleicher Weise fest montiert werden.

Da jede einzelne Platte die zeitraubende Darstellung der Schwärzungskurve erfordert, tut man gut, den verfügbaren Raum jeder Platte voll auszunutzen. Bei dem Format 13×18 *cm* sind bequem mindestens 7 Doppelspektrogramme neben den „Schwärzungsstreifen" unterzubringen. In verhältnismäßig kurzer Zeit lassen sich die gewünschten Befunde fixieren, worauf die Platte bis zur Entwicklung und Ausmessung in ihrer Kassette ruhen kann.

Aufnahme des Absorptionsglases.

Zur Ermittlung des Absorptionsfaktors für das vor die eine Spalthälfte geschaltete Absorptionsglas bedarf es nur einmal einer Aufnahme unter Weglassung der Cuvette und Abkürzung der Belichtungszeit soweit, daß die freie Spalthälfte nicht überexponiert, die verdeckte jedoch genügend belichtet ist. Wir fanden 10 Sekunden passend, ein Viertel der bei vorgeschalteter Blutlösung verwandten Expositionszeit.

Entwicklung der Platten.

Die rotempfindlichen Platten müssen bei vollkommenster Dunkelheit in die Kassetten gelegt und ebenso auch entwickelt und fixiert werden. Während der Entwicklung ist eine gleichmäßige Bewegung des Entwicklers oder der Platten im Entwickler erforderlich, da natürlich eine ungleiche Entwicklung verschiedener Plattenregionen die ganze Methode illusorisch machen würde. Da man sich von dem Gang der Entwicklung nicht überzeugen kann, so müssen die durch Probieren gefundenen günstigen Bedingungen regelmäßig streng beobachtet werden. Bei 16° erwies sich eine Entwicklungsdauer von 5 Minuten mit Rodinal 1 : 15 als geeignet für die panchromatischen Spektrumplatten von *Wratten & Wainwright.*

Darstellung der Schwärzungskurve.

Die entwickelte und getrocknete, auf der Glasseite sauber gereinigte Platte wird mit der Schichtseite nach oben in den Rahmen des am Mikrophotometer angebrachten Kreuztisches gelegt. Nun stellt man der Reihe nach jedes einzelne Feld der drei aufgenommenen „Schwärzungsstreifen" ein und ermittelt durch Verschieben des „Keils" bis zu gleichförmiger Helligkeit des gesamten Gesichtsfeldes jedesmal die zugehörige „Schwärzung"

d. h. die Zahl in Längeneinheiten (Zehntelmillimeter), die bei der jeweiligen Stellung des „Keils" einsteht. Jede Messung wird zweimal an der gleichen Stelle, jedoch zweckmäßigerweise nicht direkt hintereinander ausgeführt. Die Mittel der gefundenen Werte ergeben 3 Reihen von Zahlen, wo immer die drei zueinander gehörenden (d. h. die von der Aufnahme ein und desselben Feldes des vorgeschalteten Absorptionsglases[1]) herrührenden) die Änderung der Schwärzung bei der wechselnden Belichtung darstellen — wieder in Längeneinheiten der Vergleichsskala.

Man bildet nun die Differenzen der zu einander gehörigen Werte; diese sind eine Funktion des Verhältnisses der angewandten Lichtmengen oder auch der Differenz ihrer Logarithmen. Die Ermittlung dieser Funktion erfordert einen Umweg.

Das Verhältnis der Lichtmenge (J) zweier Aufnahmen ist unter allen Umständen für jedes Feld konstant:

$$\frac{J}{J'} = k \text{ oder logarithmisch } \lg J - \lg J' = \lg k.$$

Bei der Variation der Belichtung durch Entfernungsänderung zwischen Lichtquelle und Platte im Verhältnis 1000 : 634·5 und 634·5 : 403[2]) beträgt lg k — wie oben erwähnt — genau **0·400.** (Der Wert ist durch die Erfahrung als vorteilhaft erprobt.) Jede Differenz der Schwärzungen ist also ebenfalls durch diese Konstante mitbestimmt. Die Schwärzungskurve läßt sich nach *Schwarzschild*[3]) folgendermaßen finden:

Man trägt auf Millimeterpapier jede Differenz $(S_1 - S)$ als Funktion der geringeren Schwärzungen (S) auf und gleicht die gefundenen Punkte durch einen möglichst glatten Kurvenzug aus: Gradationskurve. In irgend einem mittleren Teile wird sich diese Kurve einer geraden Linie anschmiegen; für diesen Teil gilt also die Gleichung der Geraden:

$$S' - a = b\,(S_1 - a) \qquad (1)$$

Darin bedeutet S die geringere, S' die stärkere Schwärzung eines Schwärzungspaares, a und b Konstanten, die aus dem betreffenden mittleren Kurvenstück selbst abgeleitet werden. Liegt dieses Stück eingeschlossen zwischen zwei Punkten, deren Koordinaten S_1, $S_1' - S_1$ und S_2, $S_2' - S_2$ sind, so gilt:

$$b = \frac{S_1' - S_2'}{S_1 - S_2} \text{ und } a = \frac{S_1' - b\,S_1}{1 - b} \qquad (2, 3)$$

Wäre es nun zutreffend, daß die Gradationskurve in ihrem ganzen Verlauf eine gerade Linie darstellte, so würde die Beziehung zwischen

[1]) Vgl. S. 443.

[2]) Vgl. S. 443/4.

[3]) Publikationen der *v. Kuffner*schen Sternwarte in Wien. V. Abteilung. Bd. C (1900).

Helligkeitslogarithmen und Schwärzungen durch den Ausdruck wiederzugeben sein:

$$\lg J_1 - \lg J_2 = \frac{\lg k}{\lg b} [\lg (S_1 - a) - \lg (S_2 - a)] \quad (4)$$

Natürlich kann man auch setzen:

$$\lg J = \frac{\lg k}{\lg b} . \lg (S - a) \quad (5)$$

Nur muß man sich dabei bewußt sein, daß lg J ebensowenig einen absoluten Wert hat wie S: auf die absolute Lichtmenge wird ja gar keine Rücksicht genommen, der Nullpunkt in der Zahlenskala der lg J wird willkürlich gewählt. Die Differenz $\lg J_1 - \lg J_2$ dagegen gibt direkt den Logarithmus des Verhältnisses zweier Lichtquanten an.

Man kann also auf Grund der Gleichungen 2, 3 und 5 die Werte für lg J finden, jedoch zunächst nur für alle diejenigen Werte von S und S', die aus dem geraden mittleren Stück der Gradationskurve abzuleiten sind. Man wählt die beiden Grenzpunkte dieses Stückes und berechnet aus den Koordinaten die entsprechenden Werte von lg J sowie lg J'.

Die Koordinaten sind gemäß der Konstruktion der Kurve S_1 und $S_1' - S_1$ sowie S_2 und $S_2' - S_2$. Zunächst ergibt die Addition $(S' - S) + S$ die Werte S'; darauf berechnet man b nach Formel 2 und a nach Formel 3. Es folgt Berechnung von $(S_1 - a)$, $(S_1' - a)$, $(S_2 - a)$, $(S_2' - a)$ und Bildung ihrer Logarithmen. Multiplikation mit dem Faktor $\frac{0{\cdot}400}{\lg b}$ ergibt die vier Werte $\lg J_1$, $\lg J_1'$, $\lg J_2$ und $\lg J_2'$. ($0{\cdot}400 = \lg k.$[1]) Man wird immer finden — und dies ist die Rechnungskontrolle —, daß $\lg J_1$ und $\lg J_1'$ sowie $\lg J_2$ und $\lg J_2'$ genau um 0·400 verschieden sind. Die Berechnung kann mit vierstelligen Logarithmen oder mit Hilfe eines Rechenschiebers durchgeführt werden.

Die Werte von lg J für die außerhalb des linearen Verlaufs der Gradationskurve liegenden Werte von S lassen sich auf Grund des Postulates ermitteln, daß lg J und lg J' (d. h. die zwei korrespondierenden Schwärzungen S und S' zugehörigen Helligkeitslogarithmen) unter allen Umständen um 0·400 verschieden sein müssen. Denn das Verhältnis der beiden Helligkeiten (oder die Differenz der Logarithmen) bleibt ja für alle Felder konstant. Berechnet man also die übrigen Werte von lg J und lg J' in der gleichen Weise nach Formel 2, 3 und 5, indem man über die ganze Gradationskurve hin einzelne Punkte in regelmäßigen Abständen zur Gewinnung der Zahlen von S und S' auswählt, so bleibt an den erhaltenen Werten nur noch eine Korrektur anzubringen: Ausgehend von den zuerst gewonnenen — sicher korrekten — Zahlen, die dem mittleren geraden Kurvenstück entsprechen, bringt man sukzessive jeden einzelnen Wert von lg J oder lg J', der von der genannten Bedingung abweicht, durch Addition oder Subtraktion auf die richtige, d. h. von der korrespondierenden genau um 0·400 verschiedene Größe.

---

[1]) Vgl. S. 444, 446.

Diese korrigierten Helligkeitslogarithmen dienen nun zur Konstruktion der Schwärzungskurve. Man trägt die sämtlichen lg J als Funktion der zugehörigen S auf Millimeterpapier auf und legt durch die damit gegebenen Punkte eine mit dem Kurvenlineal gezogene Linie. Die Maße wählt man zweckmäßig so groß, daß die Einheit für lg J 50 *cm* Länge entspricht. Die Kurve gibt dann für jede beliebige — in Längeneinheiten der Mikrophotometerskala ausgedrückte[1] — Schwärzung, die auf der untersuchten Platte verzeichnet steht, direkt den Helligkeitslogarithmus mit einer Genauigkeit von 3 Dezimalen an.

Ausmessung der aufgenommenen Spektra.

Prinzipiell wichtig für die Methode ist es ja[2], daß bei jeder Belichtung direkt nebeneinander zwei Spektra von den beiden Hälften des Spaltes aufgenommen werden. Da die Platte für das Licht verschiedener Wellenlängen durchaus nicht gleichmäßig empfindlich ist[3], so ist es fundamental, daß man bei jeder Messung in den beiden Spektren jedes Paares genau die gleiche Wellenlänge einstellt.

Ferner ist zu bedenken, daß die Schwärzung eines durch ein Spektrum erzeugten Streifens zuweilen nicht über die ganze Breite des Streifens völlig gleichmäßig ist, sondern nahe den Rändern abnehmen kann; auch können geringe technische Fehler oder Unreinheiten des Spektrographenspaltes geringfügige Unterschiede der Schwärzung bedingen. Daher ist es zur Erzielung sehr guter Resultate erforderlich, stets in derselben Gegend eines solchen Streifens zu messen, am besten möglichst in der Mitte.

Die erste Aufgabe ist also eine sorgfältige Orientierung der Platte auf dem Kreuztisch[4], so daß bei ihrer Verschiebung in der Längenausdehnung eines Spektrogramms die im Gesichtsfeld erscheinende Stelle stets der gleichen Region seiner Breitenausdehnung entspricht. Dies geschieht, indem man den Rand eines geschwärzten Streifens unter Drehung der einen Triebschraube an einem dem Mikrophotometer beigegebenen, ins Gesichtsfeld einzuschaltenden Fadenkreuz entlang führt und die Stellung der Platte im Rahmen so lange korrigiert, bis bei der Verschiebung keine seitliche Abweichung jenes Randes vom Fadenkreuz mehr erfolgt. Darauf stellt man für jedes der beiden zusammengehörigen Spektrogramme etwa die Mitte fest und notiert sich die entsprechende Stellung des Plattenrahmens am Maßstab. Endlich bringt man die Abbildung der am Spektrographen angebrachten Marke für eine fixierte Wellenlänge zur Deckung mit dem Fadenkreuz und notiert auch in dieser Stellung die Ablesung am Maßstab. Mit dieser Zahl kennt man ohne weiteres sämtliche Wellen-

[1]) Vgl. S. 440.
[2]) Vgl. S. 438.
[3]) Vgl. S. 437.
[4]) Vgl. S. 443.

längen in dem untersuchten Spektrum, ausgedrückt in Längeneinheiten des Maßstabs — nachdem man nur einmal ein bekanntes Linienspektrum in dem gleichen Spektrographen aufgenommen und dessen Linien in ihrer Beziehung zu der Marke am Mikrophotometer ausgemessen hat.

Nun stellt man die für die unternommene Untersuchung wichtigen Stellen in jedem der beiden Parallelspektren ein, jede Entfernung von der Marke (auf 0·1 *mm* genau) also in beiden Spektren. Bei jeder Einstellung liest man die „Schwärzung" ab, nachdem man durch Verschieben des „Keils" das ganze Gesichtsfeld auf gleiche Helligkeit gebracht hat. Natürlich empfiehlt es sich, jede Messung mindestens einmal zu wiederholen, und zwar am besten nicht direkt hinterher, damit die momentanen Adaptions- und Ermüdungsverhältnisse des Auges bei der Mittelzahl weniger ins Gewicht fallen. Je nach der Genauigkeit, die man zu erzielen wünscht, begnügt man sich mit 2 oder 4 Messungen der gleichen Stelle. Häufigere Wiederholung pflegt das Resultat nur noch unwesentlich zu verbessern. Strebt man größte erreichbare Genauigkeit an, so ist statt einer allzu häufigen Wiederholung der Messung an einer und derselben Stelle eher eine Vervollständigung durch Messung an dicht benachbarten Stellen des Spektrums anzuraten, weil zuweilen kleine Fehler der Platte vorhanden sind, d. h. einzelne Stellen, in denen das Silber nicht in der gleichen Weise verteilt ist wie sonst. Hat man gerade eine solche Stelle für die Messung getroffen und beschränkt sich auf sie allein, so erhält man natürlich verkehrte Resultate.

Der Ausschnitt aus dem Spektrum, der im Gesichtsfeld des Mikrophotometers zur Messung gebracht werden kann, ist außerordentlich schmal; die Unterschiede der Wellenlängen an seinen Rändern betrugen z. B. bei einer Längsausdehnung des ganzen Spektrogramms (ca. 360—680 $\mu\mu$) von rund 10 *cm* nur 0·35 $\mu\mu$. Legt man selbst 10 solcher Ausschnitte aneinander, so erhält man noch immer einen wesentlich schmäleren Spektralbezirk, als ihn etwa *Hüfners* Spektrophotometer anzuwenden vermag (11—8·5 $\mu\mu$ Unterschied der Wellenlängen).

Zur **Ermittlung des konstanten Faktors** für das zur Abschwächung des weißen Lichtes dienende, die eine Spalthälfte des Spektrographen bedeckende **Absorptionsglas**[1]) mißt man in dem entsprechenden Doppelspektrogramm eine größere Zahl von Schwärzungswerten, etwa an 5 verschiedenen, über das zu untersuchende Spektralgebiet gleichmäßig verteilten Stellen und an jeder einzelnen viermal. Von den 2mal 5 Mittelwerten sucht man in der Schwärzungskurve die korrespondierenden Helligkeitslogarithmen auf; die Differenz jedes Wertepaares liefert fünf Logarithmen für das durch das Absorptionsglas ausgelöschte Licht; zeigen diese Zahlen keinen Gang mit der Wellenlänge, sondern stimmen innerhalb der Beobachtungsgenauigkeit überein, so stellt das Mittel den endgültigen Korrektionswert dar, der jedem Helligkeitslogarithmus, der sich aus einer

[1]) Vgl. S. 438/39, 444, 445.

Aufnahme der bedeckten Spalthälfte ergibt, hinzuaddiert werden muß, damit der Helligkeitslogarithmus des ungeschwächten, auf den Spalt fallenden Lichtes gefunden werde.

Wünscht man diesen Korrektionswert für eine große Zahl von Aufnahmen auf vielen Platten zu benutzen, so ermittelt man ihn besser aus mehreren Aufnahmen auf verschiedenen Platten in gleicher Weise und bildet noch von diesen Zahlen das Mittel.

Bei der **Ausmessung der Blutspektren** verfährt man in gleicher Weise; auch hier ist niemals zu verabsäumen, daß beide Spektrogramme eines Paares in gleichen Entfernungen von der Marke zu photometrieren sind. Wie man diese Entfernungen auswählt, hängt natürlich durchaus von dem Zweck der Untersuchung ab. Handelt es sich z. B. nur um einen Vergleich verschiedener Lösungen in bezug auf ihre Konzentration an Blutfarbstoff, so wird man nur eine oder einige wenige Stellen des Spektrums ausmessen, die nur in allen zu vergleichenden Spektren genau die gleichen sein müssen. Wo man sie jedoch im Spektrum wählt, ist im Prinzip gleichgültig, wenn auch in praxi nur die Regionen stärkerer Absorption in Betracht kommen. Handelt es sich dagegen darum, den Blutfarbstoff oder eines seiner Derivate durch die Lage seiner Absorptionsmaxima oder -minima zu charakterisieren, so wird man nur die Regionen des Spektrums aufsuchen, in denen solche Umkehrpunkte liegen (Absorptionsstreifen oder -banden). In geringen Abständen sind von Stelle zu Stelle die Schwärzungen im Spektrum zu ermitteln, so daß nach deren Umsetzung in Helligkeitslogarithmen eine nahezu geschlossene Kurve der Absorptionsänderungen resultiert, in der die Lage der Minima und Maxima dann leicht und scharf zu erkennen ist.

Die gleiche Kurve ergibt natürlich auch das Verhältnis der Absorption in zwei der Messung unterworfenen Spektralregionen; es kann zwischen zwei beliebigen solcher Regionen gebildet werden. Besonders charakteristisch ist es — wie leicht einzusehen ist — für je ein Maximum und ein Minimum der Absorption. Kennt man einmal deren Lage genau, so kann man sich für eine Charakterisierung eines Farbstoffs aus einer solchen Konstante darauf beschränken, nur in eng begrenzten Bezirken, eben an den Stellen der Maxima und Minima zu messen. Für die Gelb-Grün-Absorption des Oxyhämoglobins liegen solche Stellen bekanntlich bei $\lambda = 577$, 560 und 540 $\mu\mu$.

Den schönsten Einblick in die Art und den Grad der Lichtabsorption im Spektrum gewinnt man unter allen Umständen, wenn man möglichst ihren ganzen Verlauf über das Spektrum hin von Stelle zu Stelle feststellt. Besonders bei komplizierteren Verhältnissen: Parallelbestimmung zweier Farbstoffe und dergl. verspricht dies Verfahren den sichersten Aufschluß. Aber natürlich wird man sich je nach der gestellten Aufgabe die Arbeit vereinfachen.

Sämtliche gemessenen Schwärzungen werden mit Hilfe der Schwärzungskurve in die zugehörigen Helligkeitslogarithmen umgesetzt. Jedem Werte für das Spektrum des weißen Lichtes (Vergleichsspektrum) wird

darauf der Korrektionsfaktor[1]) für das vorgeschaltete Absorptionsglas hinzuaddiert: die gewonnenen Zahlen geben den Helligkeitslogarithmus des einfallenden Lichtes. Subtrahiert man nun davon den gemessenen, der gleichen Wellenlänge entsprechenden Helligkeitslogarithmus des Blutspektrums, so erhält man den definitiven Wert für die Absorption an dieser Stelle des Spektrums.

Bewertung der Resultate.

Die gewonnenen Zahlen sind ein direktes Maß dessen, was übrig bleibt, wenn man das aus der Lösung austretende Licht von dem einfallenden in Abzug bringt: Sie sind ja die Differenz der entsprechenden Helligkeitslogarithmen. Bezeichnet man die Intensität des einfallenden Lichtes als J, die des ausfallenden als J', so lautet diese Differenz:

$$\lg J - \lg J' \text{ oder auch } \lg \frac{J}{J'}.$$

Offenbar ist dies nichts anderes als der (quasi) „Helligkeitslogarithmus" des absorbierten, des ausgelöschten Lichtes. Seine Größe ist bei gegebener Farbstofflösung für jeden monochromatischen Lichtstrahl nur noch abhängig von der Schichtdicke. Reduziert man jene Differenz jedoch auf die Einheit der Schichtdicke (1 *cm*), so ist die erhaltene Größe nur noch abhängig von der Art und Konzentration des Farbstoffs. Man bezeichnet sie daher als Extinktionskoeffizienten ε. Sie ist kurz definiert durch folgende Formel, in der m die Schichtdicke in Zentimetern bedeutet:

$$\varepsilon = \frac{1}{m} \cdot \lg \frac{J}{J'} \quad (6)$$

Bei ein und derselben Schichtdicke geben also die verschiedenen Zahlen für $\lg \frac{J}{J'}$ ohne weiteres das Verhältnis der verschiedenen Extinktionskoeffizienten an: bei bekannter Schichtdicke genügt einfache Division, die Extinktionskoeffizienten selbst zu bilden.

Definiert das Verhältnis je zweier Extinktionskoeffizienten eine bestimmte Farbstofflösung, so wird der Farbstoff selbst erst charakterisiert durch Faktoren, die auch noch von seiner Konzentration unabhängig sind. Je höher die Konzentration (c) einer Farblösung ist, um so größer ist jeweils ihr Extinktionskoeffizient. Es gilt also die Proportion:

$$\frac{c^1}{\varepsilon^1} = \frac{c^2}{\varepsilon^2} = \frac{c^3}{\varepsilon^3} \text{ usw.}$$

[1]) Vgl. S. 449/50.

$\frac{c}{\varepsilon}$ ist eine bei gegebener Wellenlänge für jeden Farbstoff charakteristische Konstante, man nennt sie Absorptionsverhältnis A.[1]) Ihre Kenntnis ist von praktischer Bedeutung, da sie es ermöglicht, aus Bestimmungen des Extinktionskoeffizienten einer Farblösung ohne weiteres ihre Konzentration zu ermitteln, denn

$$c = \varepsilon \, . \, A \tag{7}$$

Bisher sind durch *Hüfner* die Absorptionsverhältnisse für die wichtigsten Hämoglobinverbindungen — entsprechend der bisher zur Verfügung stehenden Apparatur — nur in verhältnismäßig breiten Spektralgebieten bekannt. Für eine vollkommene Ausnutzung der photographischen Methode der Spektrophotometrie wäre zunächst erforderlich eine Bestimmung der gleichen Absorptionsverhältnisse über das Spektrum hin, jedoch in schmalsten Ausschnitten gemessen. Diese Aufgabe, die unter Anwendung rein dargestellter Blutfarbstoffe auszuführen wäre, harrt noch ihrer Lösung.

[1]) In der Arbeit von *Heubner* und *Rosenberg* ist der reziproke Wert von A als Extinktionskoeffizient ε bezeichnet worden; dies entspricht nicht der üblichen Ausdrucksweise.

Apparatur zur quantitativen Sammlung von Urin und Fäzes beim männlichen Rind.

Von **Wilhelm Völtz.**

Die nachstehend beschriebene und von dem Verfasser konstruierte Apparatur[1]) ist im Prinzip gleich der von ihm für Stoffwechselversuche an Schafen benutzten (siehe dieses Handbuch, S. 1039, 1912).

Es kam mir bei der Konstruktion der Apparatur darauf an, soweit als möglich Metall zu verwenden, weil die tägliche vollständige Reinigung von Harntrichter bzw. Kotfänger hierdurch wesentlich erleichtert wird. Eine aus 2 Teilen zusammengesetzte Metallschiene, Fig. 133, *9* und *10*, welche so konstruiert ist, daß dieselbe durch Verlängerung bzw. Verkürzung und verschiedene Winkelung der beiden Teile Tieren abweichender Größe und verschiedenen Ernährungszustandes angepaßt werden kann, trägt in ihrem oberen Teile einen angelöteten, im wesentlichen aus 2 Flügeln, Fig. 133, *11* und Fig. 134, *4* und *5*, und einem Metallringe mit angelöteten Schnallen, Fig. 134, *7*, bestehenden Kotfänger. Außerdem kann durch entsprechende kleine Öffnungen am Rande der Flügel des Kotfängers noch ein Stück Leinwand angeschnallt werden, welches in seiner Mitte einige Schnüre trägt, die an den Schwanz des Tieres festgebunden werden, Fig. 133, *12* und Fig. 134, *6*. Durch diese Vorrichtung ist es ausgeschlossen, daß z. B. Fliegen in das Innere des Kotfängers eindringen, und ebenso wird es verhindert, daß bei der Kotentleerung, während das Tier liegt, Kot über den Rand der Metallflügel fällt. Im allgemeinen ist die Anbringung dieser Leinwand jedoch nicht erforderlich, weil die in jüngster Zeit etwas vergrößerten Flügel es verhindern, daß Kot verloren geht, auch wenn derselbe von dem Tiere in Ruhelage abgesetzt wird.

Das Lumen des Metallringes, Fig. 134, *7*, hat einen Durchmesser von zirka 16—18 *cm*. An den Ring wird ein Schlauch aus starker, dicht gewebter Segelleinwand mit Gummieinlage angeschnallt, Fig. 133, *13* und Fig. 134, *8*, welcher in seinem oberen Teile in eine Lederkappe mit Lederriemen übergeht. Eine Anzahl außen um den Schlauch in Abständen von etwa 20 *cm*

---

[1]) Dieselbe wird geliefert von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin N. 39, Scharnhorststraße 22.

festgenähter Ringe verhindern, daß der Schlauch sich flach zusammenlegt und durch Kot verstopft wird. Zweckmäßig besteht der Schlauch aus zwei Teilen, die durch Riemen und Schnallen leicht miteinander verbunden bzw. voneinander getrennt werden können. Fig. 133. *14*. Hierdurch wird eine Reinigung des Schlauchinneren von anhaftendem Kot, die mit einer geeigneten Bürste und Wasser zu erfolgen hat, wesentlich erleichtert. Da der Kotfänger gut fixiert ist und eine Belastung desselben von der Kruppe des Tieres getragen bzw. auf das Kummet übertragen wird, kann man statt des Schlauches ebensogut einen sich stark verbreiternden Kotbeutel an den Metallring anschnallen: der Kotbeutel ist täglich mehrfach (zirka 4—6mal) zu entleeren.

Fig. 133.

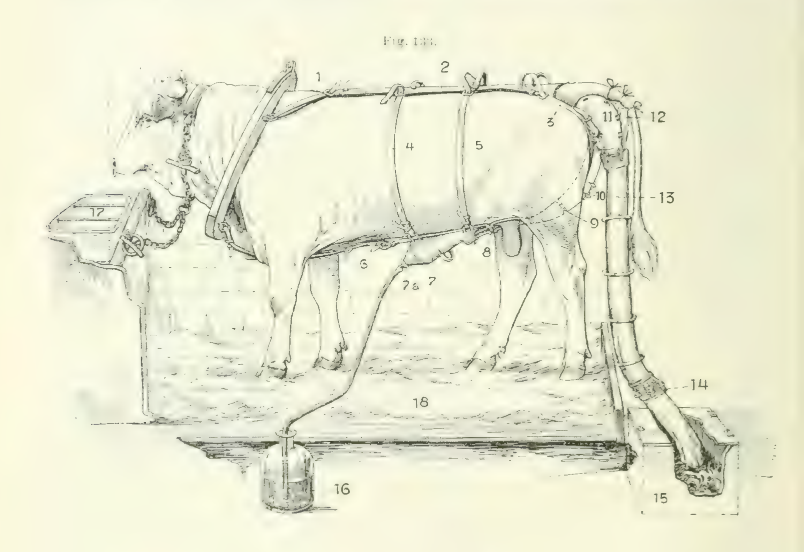
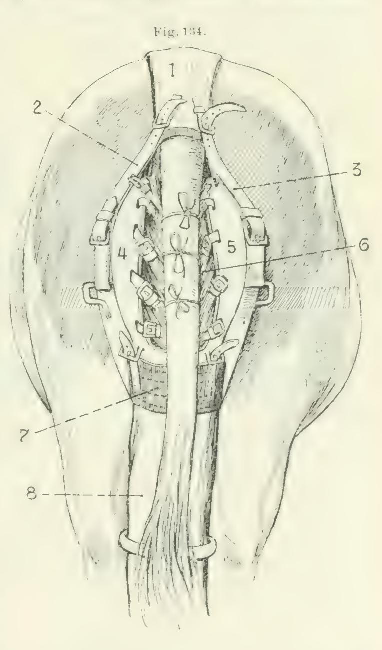


Fig. 133, *15*, Gefäß zur Aufnahme des Kotes.

Der untere Teil der Schiene (Fig. 133, *9*) geht in eine Gabel über, welche das Skrotum hindurchtreten läßt. Fig. 133, 8. Die verlängerten Schenkel der Gabel passen in entsprechende Vertiefungen des Harntrichters, welcher ebenfalls aus Metall besteht, dem Abdomen flach aufliegt und in der Mitte eine entsprechende Vertiefung zur Aufnahme des Penis besitzt. Die Schenkel der in die Vertiefungen des Trichters hineinragenden Gabel sind verschiebbar und durch Schrauben je nach der Größe des Tieres entsprechend zu fixieren. In seinem vorderen unteren Teile geht der Trichter in ein kurzes Metallrohr mit Schraubengewinde über, auf das der Schlauch mit Metallschraube (Fig. 133, *7a*), wie an Wasserleitungshähnen üblich.

leicht angeschraubt werden kann. Der Gummischlauch (Paragummi) ist nach meinen Erfahrungen am zweckmäßigsten seitlich durch eine Wand des Standes hindurch und in die zur Aufnahme des Harnes bestimmte Glasflasche von zirka 15 *l* Inhalt zu führen. Der Trichter wird außer durch die beschriebenen 2 Metallschenkel in seinem hinteren Teile, seitlich durch 4 Riemen, von denen die 2 der linken Seite auf der Fig. 133, *4* und *5* zu sehen sind, und 1 Riemen, welcher am vorderen Ende des Trichters zu befestigen ist, Fig. 133, *6*, in seiner Lage fixiert. Die seitlichen Trichterriemen führen zu einem ledernen, an der Unterseite mit Filz gepolsterten Rückenstück (Fig. 133, *2*), an dem sie festgeschnallt werden. Am Vorderende und ebenso am hinteren Ende trägt das Rückenstück je 2 Schnallen, an den hinteren Schnallen werden die zum Kotfänger führenden Riemen, Fig. 133, *3*, befestigt. Die vorderen Riemen werden durch je einen, an jeder Seite des Kummets festgeschraubten Ring gezogen und angeschnallt. Auch der vordere Trichterriemen, Fig. 133, *6*, gabelt sich in 2 kleinere Riemen, die zu entsprechend angeschraubten Ringen im unteren Teile des Kummets führen. Das Kummet gewährleistet bei der beschriebenen Anbringung des Riemenzeuges eine sehr gute Fixierung des kombinierten Kot- und Harnauffangeapparates. Auch wenn das Tier sich legt, findet keine derartige Verschiebung der Apparatur statt, daß Exkremente verloren gehen könnten. Während einer ganzen Anzahl Perioden, die insgesamt mehrere Monate dauerten, hat sich die Apparatur durchaus bewährt.

Fig. 134.



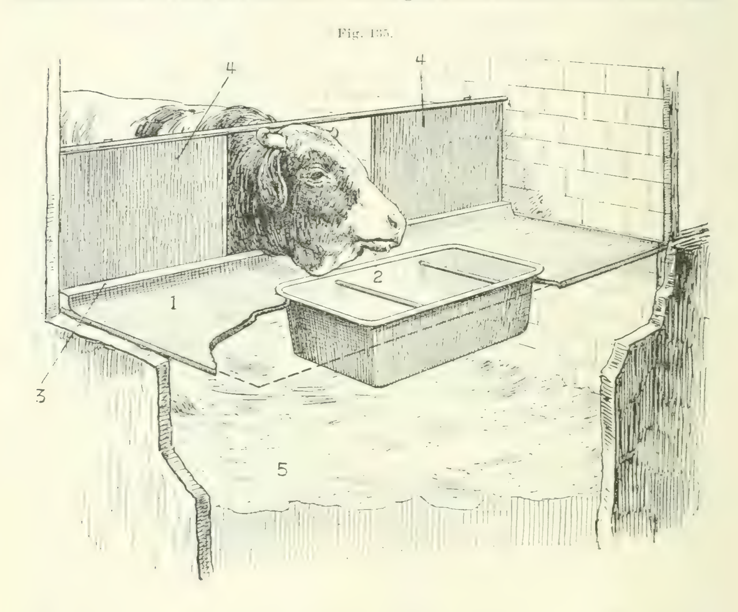
Es ist noch einiges über den Stand zu sagen. Im allgemeinen sind die im Stoffwechselversuch befindlichen Rinder genötigt, auf hartem Boden (Holz oder Stein) zu stehen und zu liegen. Ich habe eine zirka 15—20 *cm* hohe Schicht Alluvialsand (feinkörnigen Fluß- oder Seesand) auf den Stand bringen lassen, Fig. 133, *18* (Diluvialsand ist, weil scharfkantig, nicht zu empfehlen). Eine derartige trockene Sandschicht hat sich als weiches Lager, welches sich den Körperformen des Tieres anpaßt, ausgezeichnet bewährt, und ich gedenke bei späteren an Pferden

und an Schweinen geplanten Versuchen ebenfalls eine entsprechende Sandschicht zu verwenden.

Fig. 134 zeigt die Rückansicht des Kotfängers. Fig. 134, *1*, *2* und *3* Riemen. Fig. 134, *4* und *5* Metallflügel des Kotfängers, Fig. 134, *6* Leinwand mit Anschnall- und Anknüpfvorrichtung. Fig. 134, *8* Schlauch zur Abführung des Kotes mit Lederkappe und Riemen, Fig. 134, 7.

Der Krippentisch ist auf Fig. 135, *1*, der vordere Teil des Sandstandes auf Fig. 135, *5* zu sehen. Statt der häufig vor und über dem Krippentisch angebrachten Gitter ist es nach meinen Erfahrungen zweckmäßiger, eine feste Wand

Fig. 135.



aus Blech oder Holz, Fig. 135, *4*, anzubringen, welche nur eine Öffnung zum Hindurchstecken des Kopfes aufweist. Bei einer festen Wand wird das Verstreuen von Futterbestandteilen sehr erschwert. Sehr zweckmäßig ist die Anbringung einer etwa 12—15 *cm* hohen Leiste, Fig. 135, *3*, die an dem vorderen Rande des Krippentisches zu erfolgen hat. Etwa an der Wamme oder den Lippen des Tieres befindliche Futterbestandteile werden durch diese Leiste beim Zurückziehen des Kopfes abgestreift, und auch auf den Krippentisch, Fig. 135, *1*, verstreutes Futter kann nicht von letzterem durch das Tier auf den Boden gestreut werden.

Besonders empfehlenswert ist bei Ausführung von Stoffwechselversuchen endlich eine Krippe (aus emailliertem Eisen), welche durch 2 im

oberen Teil in entsprechenden Abständen angebrachte Eisenstangen, Fig. 133, *17* und Fig. 135, *2*, in drei Abteile getrennt ist und daher dem Tier das Hinauswerfen von Futter, wenn auch nicht ganz unmöglich macht, so doch sehr erschwert.

Daß das gesamte bei Stoffwechselversuchen an Pflanzenfressern nötige Rauhfutter (Heu und Stroh) möglichst fein zu häckseln ist, habe ich bereits an anderer Stelle betont.[1]) Das Häckseln des Rauhfutters ist nötig, um eine Durchschnittsprobe des betreffenden Materials für die Analyse zu erhalten, ferner um eine gleichmäßige Fütterung während der ganzen Versuchsreihe bewirken zu können und schließlich, um ein Verstreuen von Futter durch das Tier möglichst zu verhindern.

[1]) *W. Völtz,* Stoffwechselversuche an Hunden, an Wiederkäuern und an Vögeln. Gewinnung der sensiblen Ausscheidungen. Dieses Handbuch, S. 1040—1063, 1910.

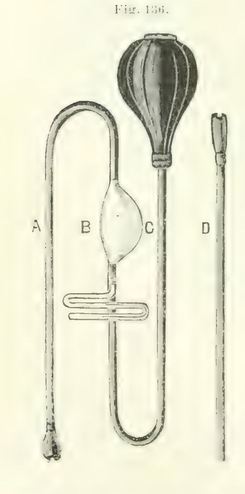
Ergänzungen zu den Methoden zur Untersuchung der Verdauungsprodukte.

(Bd. III. S. 122 bis 256.)

Von **Edgard Zunz**, Brüssel.

Zu S. 123: Schlundsondenverfahren. Statt der gewöhnlichen dicken Magensonde hat *Gross*[1]) einen besonderen Magenschlauch vorgeschlagen, welcher beim Menschen sehr leicht eingeführt wird.

Fig. 136.



Der *Gross*sche Magenschlauch (Fig. 136) besteht aus 3 Teilen: eine lange, dünne, weiche Nelatonsonde *A* geringen Durchmessers, welche man als Magenstück bezeichnen kann; ein Mittelstück *B*, welches zum Auffangen des Mageninhaltes dient; ein Endstück *C*, welches zur Ansaugung des Mageninhaltes benutzt wird. Der Schlauch *A* endet in eine vom Schlauch selbst überzogene, mit Öffnung versehene Olive. Neben dem Glasballon *B* des Mittelstückes befindet sich ein Manometer zur Bestimmung der jeweiligen Druckschwankungen im Schlauche *A*. Zur Aspiration kann man sich eines Ventilballons *C* oder besser eines Mundstückes *D* bedienen. *Gross* gibt letzterer Anordnung den Vorzug, weil man damit langsam und mit anwachsender Stärke aspirieren kann. Außerdem lernt man leicht mit einiger Erfahrung, ob etwa das Magenende des Schlauches durch Schleim, Speiseresten oder selbst durch Magenschleimhaut verstopft ist. In diesem Falle mahnt außerdem das Manometer zur Vorsicht. Es genügt in den Schlauch zu blasen und ihn darauf etwas

[1]) *M. Gross*, A new apparatus for obtaining the contents of the stomach for diagnostic purposes. The New York Medical Journ. Vol. 58, p. 600—601 (1893). — Derselbe. Weitere Erfahrungen über einen neuen Magenschlauch. Therapeut. Monatsh., Bd. 8. S. 618—619 (1894).

zurückzuziehen, um den Eintritt des Mageninhaltes in den Magenschlauch zu erlauben.

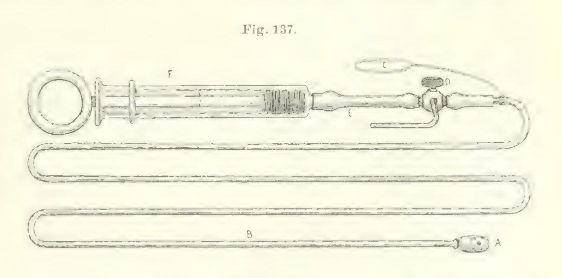
Um den *Gross*schen Magenschlauch in den Magen einzuführen, verfährt man auf folgende Weise: Die Olive wird auf die hintere Schlundwand gebracht. Dann wird die Versuchsperson aufgefordert, ruhig und tief zu atmen. Infolge des Reizes der Olive stellen sich bald schwache Schluckbewegungen ein, wodurch die Olive bis in die Nähe des Kardia befördert wird. Nun muß die Versuchsperson eine Schluckbewegung machen, ohne daß die Zähne den Schlauch dabei drücken. Sofort gleitet der Schlauch leicht in den Magen mit einem von einer schwächeren oder stärkeren Würgbewegung begleiteten Rucke.

Bei dieser Versuchsanordnung erfolgen äußerst wenige Würgbewegungen und gleitet die Olive leicht in den Magen ab infolge der Weichheit des Schlauches, selbst bei stärkeren peristaltischen Magenbewegungen.

Der *Gross*sche Magenschlauch kann als Magenverweilsonde benutzt werden, wodurch die Nachteile des Schlundsondenverfahrens teilweise beseitigt werden. Andere ähnliche Magenverweilsonden wurden neuerdings beschrieben. Man kann auf diese Weise in bestimmten Zeitpunkten des Verdauungsprozesses Mageninhaltsproben entnehmen.[1])

Zu S. 127: Gewinnung von Duodenalinhalt. Beim Menschen kann man Duodenalinhalt mittelst der *Einhorn*schen Duodenalpumpe erhalten.[2]) Dieser Apparat (Fig. 137) besteht aus einer durchlöcherten zusammenschraubbaren kleinen Metallkapsel *A* von 14 *mm* Länge und 23 *mm* Umfang, an deren oberen mit Öffnung versehenem Teil sich ein langer dünner Gummischlauch *B* von 1 Meter Länge und 8 *mm* Umfang befindet. Dieser Schlauch *B* trägt Zeichen bei 40 (*I* Cardia), 56 (*II* Pförtner), 70 (*III*) und 80 *cm* Entfernung von der Kapsel *A*. An seinem anderen Ende ist der Schlauch *B* mittelst eines Dreiweghahnes *D* mit einem kollabierbaren Ansatzschlauch *E* verbunden. Man kann diesen Ansatz *E* mit einer Aspirationsspritze *F* luftdicht in Verbindung bringen. Das mit dem Ansatz-

Fig. 137.



[1]) *M. Ehrenreich*, Über die kontinuierliche Untersuchung des Verdauungsablaufs mittelst der Magenverweilsonde. Zeitschr. f. klin. Mediz. Bd. 75. S. 231—252 (1912).

[2]) *Max Einhorn*, Über Gewinnung von Duodenalinhalt beim Menschen. Berliner klin. Wochenschr. Bd. 47. S. 522—524 (1910). — *Max Einhorn* und *Jacob Rosenbloom*, Studien über den Duodenalinhalt des Menschen. Int. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen. Bd. 2. S. 184—194 (1911).

schlauche *E* verbundene Ende des Gummischlauches *B* ist außerdem durch einen Seidenfaden mit einem Gummibändchen *C* verbunden, welches man dem Ohre der Versuchsperson anhängen kann.

Gleich vor jedem Versuche werden die Kapsel der Duodenalpumpe und der untere sich daran anschließende Teil des Schlauches mit warmem Wasser angefeuchtet. Dann bringt man die Duodenalpumpe in den Rachen der Versuchsperson, welcher man etwas Wasser zu trinken gibt, wodurch der Apparat bald in den Magen gelangt. Um sich zu vergewissern, daß die Kapsel nicht in der Speiseröhre geblieben ist, schüttelt man den Leib der Versuchsperson und saugt nachher eine Spritze voll Chymus, welchen man durch die Salzsäureanwesenheit als Mageninhalt identifiziert. Nun wird eine Spritze Wasser, dann eine Spritze voll Luft durch den Schlauch geschickt, letzterer abgeklemmt und für etwa eine Stunde sich selbst überlassen. Die Versuchsperson soll den Mund nicht zu fest zuhalten, um den Schlauch in seiner Wanderung nicht zurückzuhalten. Man muß auch das absichtliche Hinabschlucken des Schlauches vermeiden. Die Kapsel wird durch die Magenperistaltik weiter geschoben. Sie gelangt gewöhnlich durch den Pförtner in das Duodenum und später sogar etwas weiter in den Anfang des Dünndarmes. Um die Aufmerksamkeit der Versuchsperson von der Untersuchung abzulenken, empfiehlt *Einhorn* sie mit einer leichten Lektüre zu beschäftigen. Nach Ablauf einer Stunde seit dem Anfange des Versuches wird nachgesehen, wie weit der Schlauch hineingelangt ist. Befindet sich das Zeichen *III* (70 *cm*) an den Lippen oder ist dieses gar bereits in den Mund hineingelangt, so wird versuchsweise angesaugt. Ist die Kapsel im Duodenum, so erhält man gewöhnlich langsam eine klare goldgelbe oder wässrige Flüssigkeit von alkalischer Reaktion und etwas viszider Konsistenz. Ist man jedoch im Magen, so erhält man gewöhnlich ziemlich rasch eine sauere Flüssigkeit, welche der vor einer Stunde entnommenen ähnelt. Dieses kann natürlich vorkommen, wenn der Schlauch in Windungen im Magen liegt, statt gestreckt zu bleiben und so in das Duodenum hineinzugelangen.

Falls die Duodenalpumpe sich nach einer Stunde noch im Magen befindet, so zieht man den Schlauch nach Durchspritzung von Wasser und danach Luft bis ans Zeichen *II* (56 *cm*) herauf, klemmt ab und wartet wieder eine halbe bis eine Stunde, um dann nachzusehen, ob die Duodenalpumpe in das Duodenum hineingelangt ist, was fast stets der Fall ist.

Nach Gewinnung des Duodenalinhaltes klemmt man den Schlauch ab und zieht ihn langsam hinaus. Wenn das untere Ende des Schlauches am Eintritte der Speiseröhre angelangt ist, läßt man die Versuchsperson schlucken und benutzt den Augenblick, wo der Kehlkopf nach oben steigt, um die Kapsel ganz hinauszuziehen.

Die Duodenalpumpe kann auch zur Gewinnung von Mageninhalt benutzt werden. Zu diesem Zwecke befestigt man den Schlauch so, daß er nicht über das Zeichen II hineingelangen kann, wodurch die Kapsel stetig im Magen bleibt.

Um zu prüfen, ob die Kapsel der Duodenalpumpe sich im Magen oder im Duodenum befindet, kann man nach *Einhorn* verschiedene Verfahren anwenden.

1. Ist die Kapsel im Magen und saugt man an, so füllt sich die Spritze schnell mit Flüssigkeit oder beim Fehlen derselben mit Luft, vorausgesetzt, daß keine dicken Speisen vorhanden sind, welche die Löcher der Kapsel verschließen. Der dickere Schlauch des Spritzenansatzes *E* kollabiert nicht, denn der Magen enthält stets Luft und Flüssigkeit. Ist die Kapsel hingegen im Duodenum, so bewirkt man bei raschem Ansaugen mittelst der Spritze *F* ein Kollabieren des Ansatzschlauches *E*, denn es entsteht dann ein Vakuum, weil die Duodenalwände die Kapsel umklammern und weder viel Luft noch Flüssigkeit zur Verfügung steht. Nur ein langsam vor sich gehendes Ansaugen bewirkt nach einiger Zeit einen allmählichen Eintritt von Flüssigkeit in der Spritze.

2. Beim Hineinblasen einer Spritze Luft in die Duodenalpumpe fühlt die Versuchsperson den Lufteintritt in die Kapsel, wenn diese sich im Magen befindet, gewöhnlich hingegen nicht, wenn sie im Duodenum oder weiter im Anfange des Dünndarmes hineingelangt ist. Die Versuchsperson kann sogar dann oft die Lage der Kapsel im Magen richtig angeben.

3. Saugt man sofort nach Einnahme von 2—3 Schluck Milch, so erhält man, wenn die Kapsel sich im Duodenum befindet, nur Duodenalinhalt ohne Milch, wenn sie nur im Magen hineingelangt ist hingegen Milch.

4. Die Röntgenstrahlen zeigen sehr gut die Lage der Kapsel im Magen oder im Duodenum.

M. Gross[1]) hat eine andere ähnliche Duodenalsonde beschrieben (Fig 158). Sie besteht aus einer kleinen, runden oder olivenförmigen lackierten Metallkugel von vernickeltem oder versilbertem Blei von etwa 13 *mm* Durchmesser und 10—11 *g* Gewicht, welche mit einer größeren und mehreren kleinen Öffnungen versehen ist, wodurch die Metallkugel mit dem Lumen des Hauptschlauches *B* verbunden wird. Der Schlauch selbst hat 125 *cm* oder mehr Länge und 7 *mm* Durchmesser. Er trägt alle 10 *cm* besondere Zeichen. Das untere Ende des Schlauches umschließt allseitig die Metallkugel und ist mit kleinen Löchern versehen, welche den kleinen Öffnungen der Metallkapsel entsprechen. Am anderen Ende des nicht leicht kollabierbaren Schlauches befindet sich eine als Auffanggefäß dienende hohle Glaskugel *D*. Mittelst eines kurzen Gummischlauches *E* steht die etwas gebogene Glasröhre *F* mit der Glaskugel *D* in Verbindung. Am anderen Ende *G* dieses

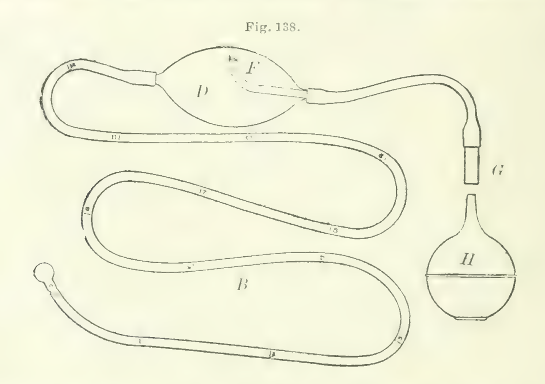
---

[1]) *M. Gross*, A duodenal tube. New York medical Journal. Vol. **91**. p. 77—78 (1910); Journ. of the Amer. med. Assoc. Vol. **54**, S. 1365—1368 (1910). — Derselbe, Eine Duodenalröhre. Münchner med. Wochenschr. Bd. **57**. S. 1177—1178 (1910). — *M. Gross*, *Oefele* und *Max Rosenberg*, Der menschliche Duodenalinhalt mit statistischen Vergleichstabellen zu seiner klinischen Beurteilung. Wiener klin. Wochenschr. Bd. **23**. S. 1165—1171 (1911). — *M. Gross*, Die Duodenalröhre und ihre Anwendung. Berliner klin. Wochenschrift. Bd. **48**. S. 1320—1322 (1911). — Derselbe, Practical experiences with my „Duodenal tube". Bost. med. and surg. Journal. Vol. **164**. S. 44—47 (1911).

Gummischlauches befindet sich entweder das Mundstück *G* zur Aspiration oder der Gummiballon. *H. Gross* gibt der Mundaspiration den Vorzug.

½ Stunde vor der Einführung der *Gross*schen Duodenalsonde nimmt die Versuchsperson eine flüssige oder breiige Mahlzeit, welche, um Duodenalinhalt in genügender Menge leicht zu erhalten, nach *Gross* keine zu hohe Salzsäureanregung bewirken soll, aber jedoch durch ihren Gehalt an Wasser und Fett eine genügende Reizung der Duodenalschleimhaut verursachen muß. Die Versuchsperson schlingt die wohl eingespeichelte Metallkapsel leicht bis etwa 45 *cm* hinunter. Durch leichtes Hineinblasen macht man dann den Schlauch in der Magenhöhle frei. Nun legt sich die Versuchsperson auf die rechte Seite. Nach einigen Minuten läßt man den Duodenalschlauch bei halbgeöffnetem Munde von selbst, ohne willkürliche Schluckbewegungen der Versuchsperson, bis etwa 60 *cm* hinuntergleiten, indem der Schlauch dem Zuge der kleinen Metallkapsel folgt. Nach 10 bis

Fig. 138.



15 Minuten saugt man zum ersten Male an. Meistens erhält man dann eine gelbliche Flüssigkeit, welche man als Mageninhalt anerkennt, wodurch man sich von der vollendeten Einstellung der Metallkapsel vergewissert. Die Versuchsperson muß noch weiter mit halbgeöffnetem Munde bleiben, damit der Duodenalschlauch tiefer hineingezogen werden kann. Nach einiger Zeit kann man schließlich 65—70 *cm* am Mundende des Schlauches ablesen. Jetzt wird wieder angesaugt. Fast regelmäßig findet man eine die oben beschriebenen Eigenschaften des Duodenalinhaltes aufweisende gelbliche Flüssigkeit (ohne Kaseinflocken z. B. bei Milcheinführung, während dies der Fall für die Mageninhaltsprobe war), von saurer oder schwach saurer Reaktion. Nach 10 oder 15 weiteren Minuten gelingt es in den meisten Fällen, beim Menschen Duodenalinhalt von neutraler oder alkalischer Reaktion zu bekommen.

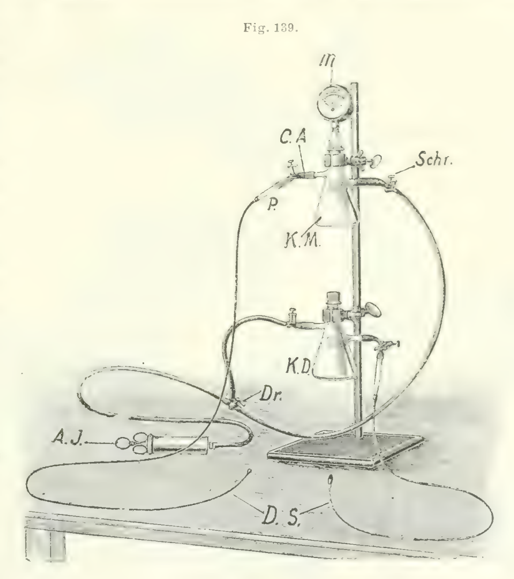
Die stets tiefer als das Duodenum der Versuchsperson liegende Glaskugel *D* erlaubt den fortwährenden freien Abfluß des Duodenalinhaltes

nach außen, oft selbst auch ohne Aspiration. Tritt eine Unterbrechung im Abfluß ein, so genügt die Aspiration, um bald wieder den Abfluß des Duodenalinhaltes nach außen zu bewirken.

Man kann die Metallkapsel der *Einhorn*schen Duodenalpumpe und der *Gross*schen Duodenalsonde durch ein knapp pillengroßes Führungskügelchen ersetzen, dessen Drainende siebartig durchlöchert ist. An Stelle der Aspirationsvorrichtung ist eine Wasserstrahlpumpe angebracht, die einen beständigen negativen Druck im Duodenum hervorruft und dadurch eine dauernde, durch ein Vakuummeter regulierbare Ansaugung ermöglicht.

Lazarus[1]) bedient sich einer zirka 50 *cm* fassenden Saugpumpe statt der Wasserstrahlpumpe und steigt nicht über eine 10 bis 20 *cm* betragende Evakuierung. Der nebenbei (Fig. 139) abgebildete Apparat besteht aus Aspirations- und Einspritzungsspritze *AJ*, welche mittelst zweier Schläuche mit dem Magenkölbchen *KM* und dem Duodenalkölbchen *KD* verbunden ist. Von diesen gehen mit Schraubklemmen *(Schr)* verschließbare, kollabierbare Ansatzschläuche *CA* aus, welche durch Pipetten *P* mit den in den Magen und das Duodenum resp. eingeführten dünnen Sonden *(D, S)* in Verbindung gebracht werden. Je nach der Stellung des Dreiwegehahnes *Dr* kann man doppelseitig oder einseitig aspirieren bzw. Flüssigkeit oder Gas infundieren. Das Manometer *(m)* zeigt den Evakuationsgrad an.

Fig. 139.



Die *Lazarus*sche Magenduodenaldoppelsonde wird leicht auf dieselbe Weise wie die *Einhorn*schen und *Gross*schen Magen- und Duodenalsonden bei der Versuchsperson eingeführt. Beide Kapseln werden in den Rachen gebracht und gelangen meistens unter schluckweisem Trinken von Wasser

[1]) *P. Lazarus*, Duodenalsonde. Berliner klin. Wochenschr. Bd. 49. S. 72—73 (1912).

wie eine Pille in den Magen. Von da gelangt unter weiterem Trinken, insbesondere in rechter Seitenlage, die Duodenalkapsel meist innerhalb einer Stunde ins Duodenum.

Da die Anwendung sowohl der *Einhorn*schen Duodenalpumpe als der *Gross*schen oder *Lazarus*schen Duodenalsonde ziemlich umständlich und außerdem unangenehm für die Versuchsperson ist, hat *Sarnizyn*[1]) ein anderes Verfahren ersonnen, um Dünndarminhalt zu gewinnen. Diese Methode kann man auch bei Hunden und anderen Tieren anwenden mit ensprechenden Änderungen der benutzten Kapsel.

Die Versuchsperson oder das Versuchstier erhält eine besondere Kapsel zum Hineinschlucken. Diese Kapsel besteht aus einer äußeren *Sahli*schen Glutoidkapsel, welche der Magenverdauung widersteht, nicht aber der Darmverdauung. In dieser Glutoidkapsel befindet sich eine innere Silberkapsel, welche in ihrem Deckel eine Öffnung besitzt, welche mittelst eines etwas größeren Silberventils geschlossen wird. Im Innern der Silberkapsel ist ein Schwamm vorhanden. Sobald die äußere Glutoidkapsel sich im Pförtner aufgelöst hat, saugt der Schwamm den Dünndarminhalt auf und schließt dadurch das Silberventil. Die nun geschlossene Silberkapsel wird durch den ganzen Darm befördert und wird leicht im Kote wiedergefunden. Man öffnet das Ventil und entnimmt den Dünndarminhalt mittelst einer Pipette.

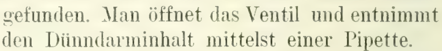
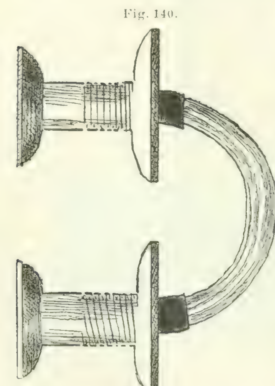
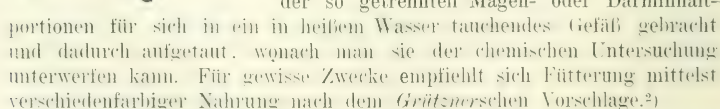


Fig. 140.



Zur Isolierung des Magens und des Dünndarmes post mortem (Bd. III. S. 127). Um die chemische Zusammensetzung des Inhaltes der verschiedenen Teile des Magens und des Darmes jede für sich zu untersuchen, kann man auch den herausgenommenen Magendarmkanal sofort auf einer weichen Unterlage, welche jede Verdrückung vermeidet, in ein Zinkgefäß bringen. Letzteres wird mit einem Deckel verschlossen und in eine mit Kältemischung gefüllte Gefrierkiste gelegt. Nach 36 bis 48 Stunden, oder sogar früher, kann man den durchgefrorenen Magen oder Darm an den geeigneten Stellen durchsägen. Nun wird jede der so getrennten Magen- oder Darminhaltportionen für sich in ein in heißem Wasser tauchendes Gefäß gebracht und dadurch aufgetaut, wonach man sie der chemischen Untersuchung unterwerfen kann. Für gewisse Zwecke empfiehlt sich Fütterung mittelst verschiedenfarbiger Nahrung nach dem *Grützner*schen Vorschlage.[2])

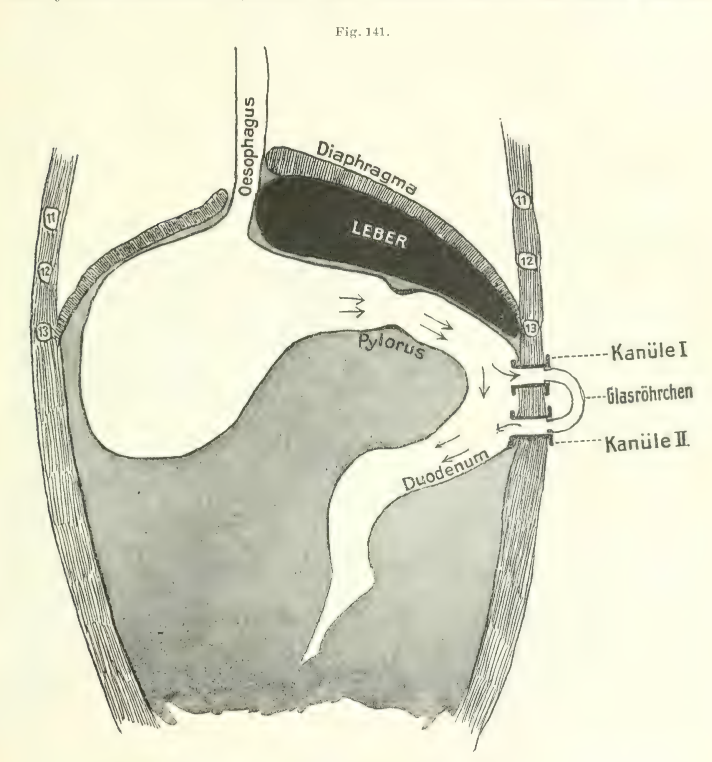


[1]) *P. J. Sarnizyn,* Ein neues Verfahren, den Inhalt des Dünndarmes zu erhalten unter Anwendung einer Kapsel mit einem Schwamm. Berliner klin. Wochenschr. Bd. **47**. S. 1573—1574 (1910).

[2]) *P. Grützner,* Ein Beitrag zum Mechanismus der Magenverdauung. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **106**. S. 463—522 (1905). — *A. Scheunert,* Zum Mechanismus der Magenverdauung. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **114**. S. 64—92 (1906).

Zu S. 137. Beobachtung der Magenentleerung. Um die Magenentleerung beim Hunde unter der Norm möglichst naher Bedingungen beobachten zu können, gibt *Katsch*[1]) folgende Methode an. Man legt einem Hunde 2 mittelstarke Duodenalkanülen nach *Dastre-Pawlow* an. Diese Kanülen sollen möglichst nahe beieinander liegen, ohne daß die Kanülenscheiben sich jedoch berühren (Fig. 140). Zum Versuche werden aus beiden Kanülen

Fig. 141.



die Korkstöpsel herausgenommen und beide Kanülen mittelst einer passenden U-förmigen gebogenen Glasröhre verbunden, deren beide Enden mit einem Gummirohrstückchen überzogen sind, so daß sie hermetisch in die Kanülen eingefügt werden können. Wie die Fig. 141 es zeigt, gelangt dann bei jeder Pförtneröffnung ein Teil des Mageninhaltes erst auf den Umweg der gebogenen Glasröhre in das Duodenum weiter.

[1]) *G. Katsch*, Eine Duodenaldoppelkanüle zur Beobachtung der Magenentleerung. Arch. f. Path. u. Physiol. **1911**. S. 244—248.

Mittelst dieses Verfahrens läßt sich die Magenentleerung gut verfolgen, falls der Versuchshund keine zu feste Nahrung eingenommen hat. Zur Gewinnung des Endproduktes der Magenverdauung eignet sich hingegen diese Methode, selbst bei den nötigen Änderungen, eigentlich nicht.

Zu S. 137: Aufhebung der Bewegungsreflexe vom Dünndarme auf den Magen und auf die höher gelegenen Teile des Dünndarmes. Durch Einspritzung von 3 bis 4 *cm*³ einer 1prozentigen Lösung von Novokain in den Dünndarm kann man die Bewegungsreflexe vom Dünndarme auf den Magen und auf die höher gelegenen Teile des Dünndarmes für eine halbe Stunde aufheben.[1])

Zu S. 143: *Thiry-Vella*sche Fistel. Um ein dem natürlichen Vorgang ähnliches Eintreten kleiner Inhaltsmengen in den Darm zu ermöglichen sowie um zu vermeiden, daß die eingebrachte Substanz der Schwere entgegen sich bewegen muß, empfehlen *Zuntz* und *Rosenberg*, die obere Öffnung des isolierten Darmteiles am Rücken zu lagern. Dadurch bewegt sich die einfließende Flüssigkeit zunächst der Schwere nach weiter, um dann von der normalen Peristaltik des Fisteldarms erfaßt zu werden.[2])

Zur Gewinnung großer Mengen enzymreichen Darmsaftes empfiehlt *Boldyreff*[3]) folgendes Verfahren: Bei einem großen Hunde wird eine *Thiry-Vella*sche Fistel im Duodenum sogleich hinter der Einmündungsstelle des Gallen- und des Pankreasganges angestellt. In eine der beiden Öffnungen dieser Fistel führt man vorsichtig ein weiches durchlöchertes Gummiröhrchen, welches einen schwachen mechanischen Reiz des Darmes auslöst und so ein reichliches Abfließen des Darmsaftes aus der isolierten Schlinge hervorruft. Man läßt auf diese Weise die andere Öffnung und den ihr anliegenden Teil der Darmschlinge in Ruhe, so daß dieser Dünndarmteil in gewissen Zeitabschnitten einen fermentreichen Darmsaft absondert. Unter beiden Öffnungen der Fistel wird ein Trichter angebracht, welcher den aus beiden Öffnungen hervorfließenden vermischten Darmsaft in ein unter ihm hingestelltes Gefäß ergießt.

Um den Darmsaft leicht aufzufangen, läßt *Lombroso*[4]) die Enden der Schlinge 2 *cm* aus der Bauchwand heraustreten. Dann kann das Versuchstier auf eine Seite während dem Versuche liegen ohne Verlust eines Teiles des Darmsaftes. Diese Lage wird leichter von den Hunden längere Zeit wie die aufrechte auf den Füßen ertragen.

[1]) *F. Best* und *O. Cohnheim*, Über Bewegungsreflexe des Magen-Darmkanals. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **69**. 209—240 (1910).

[2]) *S. Rosenberg*, Die physiologischen Folgen der Gastroenterostomie. *Pflügers* Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **73**. S. 403—421 (1898). — *W. Croner*, Versuche über Resorption von Fetten im Dünndarm. Biochem. Zeitschr. Bd. **23**. S. 97—136 (1910).

[3]) *W. Boldyreff*, Über das Genießen großer Mengen fermentreichen Darmsaftes. Zentralbl. f. Physiol. Bd. **24**. S. 92—98 (1910).

[4]) *U. Lombroso*, Contributo alla fisiologia dell'intestino. I. La secrezione enterica. Arch. di farmac. sper. e scienze affini. Vol. **9**. p. 262—298 (1911). — Derselbe, Contribution à la physiologie de l'intestin. I. La sécrétion entérique. Arch. ital. de biol. T. **56**. p. 17—50 (1911).

Für gewisse Zwecke empfiehlt *Lombroso*[1]) den mittleren Teil der isolierten Darmschlinge auf eine Länge von 3—4 *cm* der Bauchwand zu befestigen und sie dann der Länge nach zu schneiden, so daß man zwei nebeneinander liegende *Thiry-Vella*sche Fisteln erzielt, zwischen welchen der Zusammenhang der Nervenplexen unverändert bleibt. Man kann das untere Ende der ersten Darmschlinge dem oberen Ende des anderen nähern, so daß beide Schlingen als eine einzige zu betrachten sind, oder das obere Ende der zweiten Schlinge durch einen Wattepfropfen verschließen, damit die in der ersten Schlinge gebrachten Stoffe oder Lösungen nicht in die zweite gelangen.

Zu S. 150: Mittelst Wasser geheizte Brutschränke. Unter den vielen vorgeschlagenen Brutschränken, welche mittelst Wasser geheizt werden, verdienen die *Hearson*schen erwähnt zu werden. Diese Brutschränke werden ohne Quecksilberthermoregulator durch eine besondere Kapsel geregelt, welche an der hinteren linken Ecke des oberen Teiles des Wasserbehälters gleich unter der sogenannten Exzelsiorgasklappe liegt. Die Fig. 142 zeigt einen solchen Brutschrank. Die Fig. 143 gibt einen besseren Überblick der Einrichtung der Exzelsiorgasklappe.

Fig. 142.

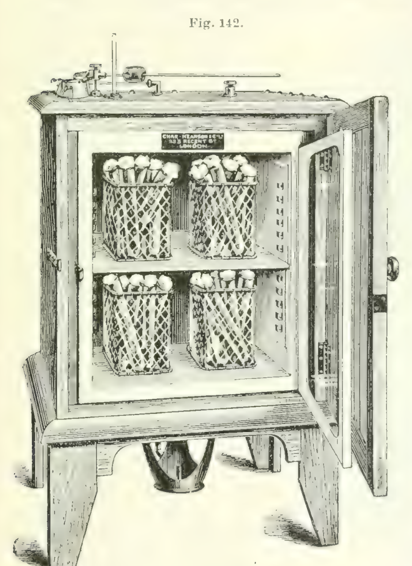
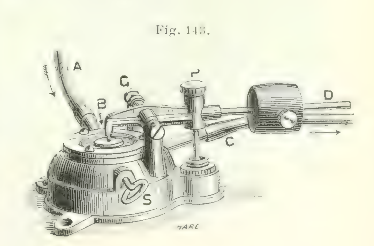


Fig. 143.



Die hermetisch geschlossene, schmale metallische Regulierkapsel enthält einige Tropfen einer Flüssigkeit, dessen Siedepunkt der für den Brutschrank gewünschten Temperatur entweder genau oder ungefähr entspricht. Diese Regulierkapsel befindet sich in einer kleinen Metallschachtel, welche selbst am unteren Ende der Röhre liegt, durch welche die unter der Schraube *S* befindliche Nadel dringt.

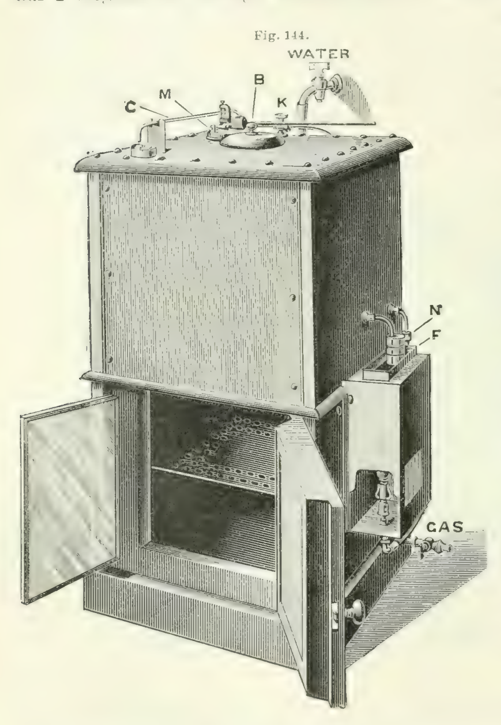
An der oberen Seite der Regulierkapsel ist ein dickes Metallstück mit zentraler Senkung gelötet. Das untere Ende der unter der Schraube *P*

[1]) S. Note 4 auf vorhergehender Seite.

befindlichen Nadel liegt in dieser Senkung, während das obere Ende dieser Nadel etwas in die Dille der Schraube *P* dringt. Dadurch wird die im Innern des Wasserbehälters des Brutschrankes befindliche Kapsel mit der über den Brutschrank gelegenen Exzelsiorgasklappe verbunden.

In der umstehenden Fig. 143 stellt *A* die Eintrittsröhre des Gases in die Exzelsiorgasklappe dar, *C* die Austrittsröhre, welche das Gas von der Gasklappe zum Brenner führt. *BD* ist ein Hebel, welcher sich in *G* auf 2 Regulatoren bewegt. Mittelst der in der Dille der Schraube *P* eindringenden Nadel wirkt die Regulierkapsel auf den Hebel *BD*. Sobald das Ende *B* dieses Hebels auf die unter diesem Ende *B* befindliche Scheibe drückt, hört die Hauptgaszufuhr völlig auf. Während dieser Zeit strömt jedoch eine sehr geringe Gasmenge von *A* zu *C* durch eine im Innern der Klappe befindliche Öffnung, dessen Durchmesser mittelst der Schraubennadel *A* geregelt wird, so daß die in dem unter dem Brutschranke befindlichen kleinen Behälter brennende kleine Flamme nie erlöscht. Die durch das Sieden ihres Inhaltes bewirkte Ausdehnung der Regulierkapsel stellt die auf den Hebel *B D* wirkende Treibkraft dar. Da diese Ausdehnung erst bei einer im voraus festgestellten Temperatur vor sich gehen kann, wird der Hebel *BD* sich nur dann bewegen, wenn diese Temperatur erreicht ist

Fig. 144.



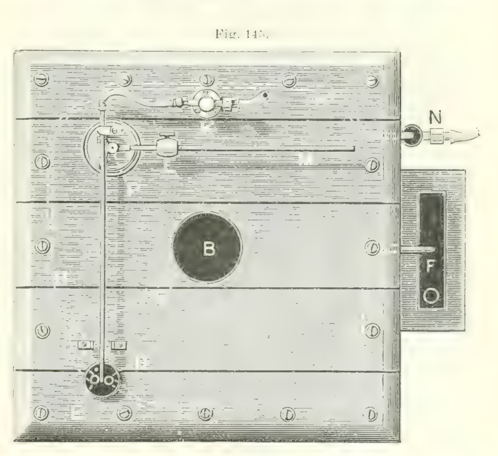
Die Veränderungen des Atmosphärendruckes können bei langdauernder Verwendung des Brutschrankes Schwankungen von $^{1}/_{2}{}^{0}$ ungefähr beiderseits der erwählten Temperatur bewirken. Um diese Schwankungen auszugleichen, befindet sich auf den Hebel *BD* ein Gewicht, welches man leicht etwas verschieben kann. Dieser Hebel bezweckt außerdem die Veränderung des

Siedepunktes der in der Regulierkapsel enthaltenen Flüssigkeit, so daß man die Temperatur eines gegebenen Brutschrankes innerhalb einem Gebiete von 8° C ändern kann.

Die *Hearson*schen Brutschränke können für alle zwischen 16 und 175° C befindlichen Temperaturen eingerichtet werden. Sie können auch mit Petroleum oder mit elektrischen Lampen statt Gas erhitzt werden, was nur geringe Veränderungen der eben beschriebenen Einrichtung erfordert.

Falls man im Sommer oder in heißen Gegenden oder Klimaten im Brutschranke eine Temperatur von 20° C oder eine andere nicht sehr hohe Temperatur festzuhalten wünscht, kann man sich mit Vorteil des sogenannten *Hearson*schen kalten biologischen Brutschrankes bedienen, bei welchem man mittelst Benutzung der dazu theoretisch erforderlichen Eismenge die Beständigkeit einer relativ geringen Temperatur selbst dann noch erreicht, wenn die äußere Luft 30—40° C mehr aufweist als die erwünschte Temperatur des Brutschrankes.

Fig. 145.



Dieser durch die Fig. 144 und 145 veranschaulichte Brutschrank besteht aus einem mit einem Eis enthaltenden Gefäße überragten Wasserbehälter. Eisgefäß und Wasserbehälter sind von einer dicken Schicht die Wärme schlecht leitenden Materials umgeben, um sie von den äußeren Einflüssen möglichst zu befreien. Die Regulierung der Temperatur im Innern des Wasserbehälters wird durch einen schmalen Wasserstrom besorgt, welcher beständig in eine von 3 bestehenden Richtungen fließt. Die Richtung dieses Wasserstromes wird durch die thermostatische metallische Regulierkapsel automatisch bewirkt.

Auf dem Deckel des *Hearson*schen kalten biologischen Brutschrankes befindet sich eine Hebelplatte mit Hebel *M*. An dieser Platte ist ein Einsatz geschraubt, welcher eine sich um 2 am Deckel und am Boden des Brutschrankes befindlichen Achsen drehende senkrechte Welle trägt, welche selbst eine wagerechte Röhre stützt. Der Wasserbehälter enthält die Regulierkapsel in einem besonderen Behälter, welcher durch eine gleich unter der Schraube *P* an der Hebelplatte geschraubte Röhre getragen wird. Ein steifer Faden überträgt die Bewegung der Regulierkapsel auf den Hebel *M*, welcher mit der Röhre *C* auf solcher Weise in Verbindung steht, daß bei

Ausdehnung der Regulierkapsel die Röhre C sich wagerecht nach links bewegt.

Zur Seite des Brutschrankes befindet sich ein mit einem durch eine kleine Gasflamme erhitzten offenen Kessel versehener Behälter. Der Boden dieses Kessels ist durch eine Röhre mit dem Boden des Wasserbehälters verbunden, so daß das Wasser stets auf gleicher Höhe im Wasserbehälter und im Kessel steht. Der Boden des Eisbehälters besitzt auch eine Öffnung, welche diesen Behälter mit dem Wasserbehälter verbindet. Am Deckel des Wasserbehälters besteht eine Überflußröhre N, durch welche der Wasserüberschuß abfließt. Das vordere Ende der kleinen Röhre C ist unterwärts gebogen. Gleich unter dieser Biegung fangen 2 senkrechte Röhren D und E an, welche sehr nahe beieinander in einem oben offenen Gefäße liegen. Die senkrechte Röhre E ist durch die Röhre E' mit dem oberen Teile des Eisbehälters verbunden, während die senkrechte Röhre D mit dem Kessel F mittelst der Röhre D' in Verbindung steht. Die Klappe K ist rechts mit einer beständigen Wasserzufuhr verbunden, links mittelst einer Kautschukröhre mit der schmalen Röhre C.

Der Wasserstrom dringt durch die Klappe K, fließt längst den Röhren D und D' bis zum Kessel F, wo er erwärmt wird, und von da in den Wasserbehälter, wodurch die innerliche Temperatur des Brutschrankes steigt. Nach einiger Zeit dehnt sich die Regulierkapsel aus, wodurch die Röhre C sich nach links bewegt. Dann fließt das Wasser zwischen den Röhren D und E in das diese beiden Röhren enthaltende offene Gefäß und von da aus der Wasserstrom durch die Röhe HH' in die Überflußröhre N, ohne das Innere des Brutschrankes zu berühren.

Ist die Temperatur der Zimmer, in welcher sich der Brutschrank befindet, höher als der Siedepunkt der in der Regulierkapsel enthaltenen Flüssigkeit, so bewegt sich die Röhre C weiter nach links, so daß schließlich das Wasser längs den Röhren E und E' fließt, um nachher durch den Eisbehälter zu dringen. Dadurch erniedrigt sich die Temperatur des Innern des Brutschrankes, die Regulierkapsel senkt sich etwas und der Wasserstrom fließt nun wieder zwischen den Röhren D und E.

Je nach der Temperatur des äußeren Mediums muß man entweder nur stets den Eisbehälter mit Eis füllen oder nur die Gasflamme des Kessels anzünden oder beide Einrichtungen gleichzeitig in Wirksamkeit setzen.

Zu S. 157: Brutschränke für elektrische Heizung. Unter den vielen mittelst Elektrizität geheizten Brutschränken müssen die neuen *Hearson*schen sogenannten anhydrischen elektrischen Brutschränke kurz besprochen werden.

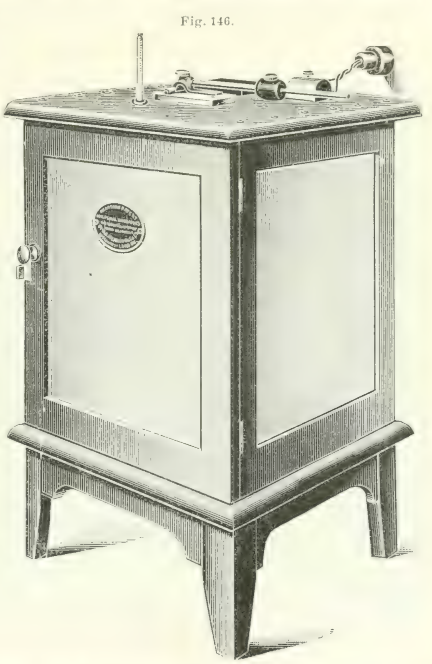
Die Fig. 146 zeigt einen solchen Apparat. Die Regulierung der inneren Temperatur des Brutschrankes wird, wie in den anderen *Hearson*schen Brutschränken, durch das stetige Wechselspiel der Ausdehnung und der Senkung einer Regulierkapsel besorgt, in welcher sich einige Tropfen einer bei einer gegebenen Temperatur siedenden Flüssigkeit befinden.

Ein oder mehrere Widerstandsfäden, welche sich über die ganze innere Oberfläche des Brutschrankes verbreiten, erteilen die Hitze dem Innern des Brutschrankes.

Die widerstandsfähigen Leiter können auf verschiedene Arten (allein oder in Verbindung) benutzt werden, je nach der erwünschten Temperatur und der Stromspannung in Volts.

Sobald der elektrische Strom durch den Brutschrank läuft, nimmt die sich über die ganze innere Oberfläche des Brutschrankes verteilende Hitze allmählich zu bis zum Augenblicke, wo die Ausdehnung der Regulierkapsel den Strom unterbricht, was dann vorkommt, wenn die innere Temperatur des Brutschrankes sich über den festgestellten Grad zu erhöhen strebt. Sobald die Temperatur des Brutschrankes unter diesem Grade zu sinken beginnt, senkt sich die Regulierkapsel etwas und der elektrische Strom läuft sofort wieder durch den Brutschrank.

Fig. 146.



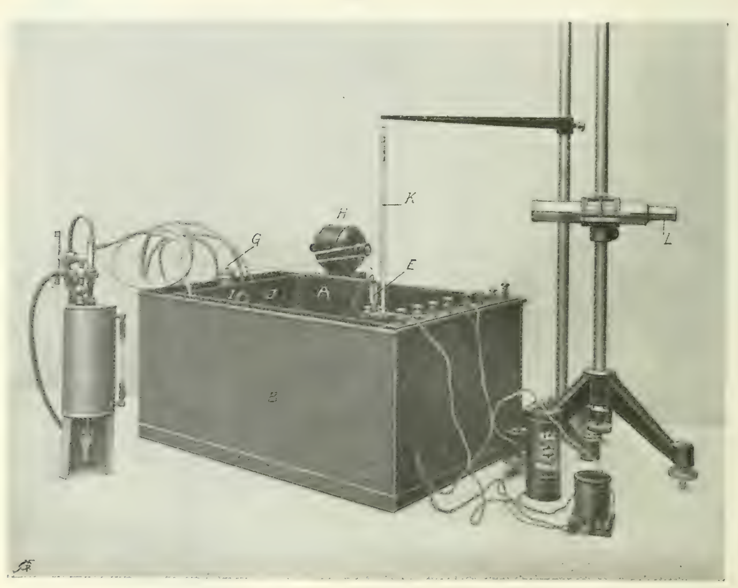
Zu S. 161. Thermostaten. Um die Verdunstung des Wassers in den Thermostaten zu vermindern, kann man das Wasser mit einer Schicht von Paraffinöl und den Thermostat mit einem die nötigen Öffnungen besitzenden Bleideckel bedecken.[1])

Die Cambridge Scientific Instrument Company liefert ein als Thermostat dienendes, mittelst elektrischer Kontrolle auf beständige Temperatur bleibendes Ölbad. Wie aus den Fig. 147 und 148 erhellt, besteht dieser Thermostat aus 2 Behältern, wovon der eine *A* in den anderen *B* mittelst 2 Metallstäbchen hängt. Der Boden vom schmäleren Behälter *A* ist mit mehreren ziemlich breiten Öffnungen versehen. Das Öl wird mittelst 4 Erwärmungskabeln auf beständige Temperatur gebracht. Diese Erwärmungskabel befinden sich wagerecht in einem Messingrahmen *C*. Jeder

[1]) *W. Biltz* und *A. v. Vegesack,* Über die Rolle der Elektrolyte bei der Dialyse von Kolloiden. Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. 68. S. 357—382 (1909).

Kabel entspricht einem Widerstande von ungefähr 100 Ohm. Beide Enden jedes Erwärmungskabels sind an einem senkrechten Hartgummirahmen *D* befestigt, welcher mit dem Messingrahmen *C* einen rechten Winkel bildet. Der Messingrahmen *C* liegt im äußeren Behälter *B* gleich unter dem Boden des inneren Behälters *A*. Die Enden der 4 Erwärmungskabel befinden sich senkrecht über der Öloberfläche. Auf diese Weise läßt sich leicht eine gleichmäßige Erwärmung des Öles erzielen. Man kann die 4 Erwärmungskabel entweder in Serien oder parallel oder in anderer Einrichtung verbinden. Zur Unterbrechung des elektrischen Stromes, falls das Ölbad eine

Fig. 147.

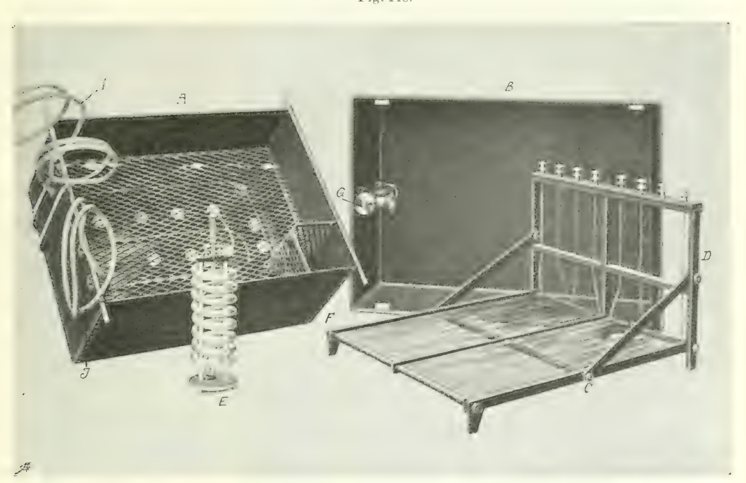


höhere Temperatur als die gewünschte erreicht, dient der in der Ecke *F* des inneren Behälters *A* befindliche Thermoregulator *E*, welcher eigentlich aus einer Toluol enthaltenden schraubenförmigen Kapillarglaskanüle besteht. Wegen des breiten Ausdehnungskoeffizienten dieser Flüssigkeit wird durch die Längeveränderungen dieser Toluolsäure ein Relaisstromkreis geschlossen oder geöffnet. Die Armierung dieses Relaisstromkreises vervollständigt den durch die Erwärmungskabel laufenden Hauptstromkreis. Da das Relais einen Stromkreis von 100 oder 200 Volt zu unterbrechen hat, taucht es in ein schmales mit Öl gefülltes Gefäß, um jede Funkenbildung zu vermeiden. Der Ausdehnungskoeffizient des Toluols ist so groß, daß

jeder Temperaturunterschied von 1° C eine Bewegung von ungefähr 30 *mm* der Toluolschicht in der Kapillarglassäule hervorruft. Der elektrische Kontrollstrom ist also äußerst empfindlich.

Eine im äußeren Behälter *B* befindliche, durch den Motor *H* in Bewegung gebrachte Pumpe *P* bewirkt eine stetige Bewegung des Öles im Behälter *B*. Das Öl wird an seiner Oberfläche in den Pumpenzylinder angesaugt, um sich darauf in einem wagerechten Strom am Boden des Behälters *B* auszubreiten. Man erzielt so tüchtige Bewegungen des Öles im äußeren Behälter *B*. Obgleich das Öl im inneren Behälter *A* auch in Bewegung bleibt, so wird es doch keineswegs so kräftig geschüttelt wie im inneren

Fig. 148.



Behälter. Demnach ist der Hauptzweck des äußeren Behälters, als Wärmeverteilungsvorrichtung für den inneren Behälter zu dienen.

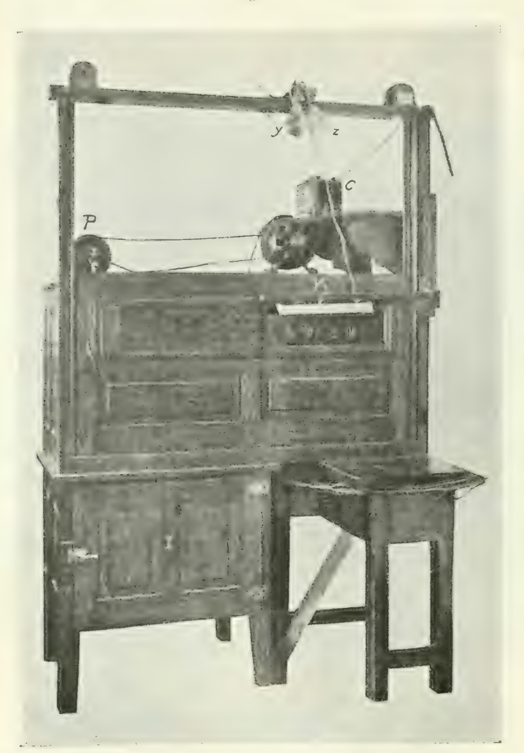
Falls der so erzielte Ölkreislauf für gewisse Zwecke nicht genügt, benutzt man außerdem noch eine besondere Schüttelvorrichtung, welche aus einer Kautschukröhre von geringem Durchmesser besteht. Diese Kautschukröhre ist auf der Oberseite der Grundfläche des inneren Behälters *A* mittelst ihres hermetisch verschlossenen Endes befestigt. Die Kautschukröhre selbst ist mit kleinen, 1 *cm* voneinander entfernten Öffnungen durchlöchert. Durch das freie Ende dieser Kautschukröhre wird mittelst eines Wassergebläses Trockenluft geblasen, welche durch die schmalen Öffnungen der Röhre als Bläschen durch das im inneren Behälter *A* befindliche Öl auftauchen.

Beide Fig. 147 und 148 zeigen die Enden *I* und *J* von 2 anderen Kautschukröhren, durch welche man einen Wasserstrom laufen läßt, falls

man das Öl erkalten muß wie es der Fall ist, wenn man in einer heißen Gegend eine geringere Temperatur im Thermostat aufrechthalten muß, als die der umgebenden Luft.

Mittelst eines geeigneten Lackes werden alle Metallteile des Thermostates gut isoliert. Im inneren Behälter *A* taucht in das Öl das Thermometer *K*. Ein Kathetometer *L* erlaubt die Temperatur des Thermostates auf 0·005° C festzustellen. Selbst bei großen Schwankungen der Temperatur der äußeren Luft kann man die Temperatur des Ölbades auf ± 0·02° C aufrechthalten.

Fig. 149.



Wenn kein elektrischer Strom durch die Erwärmungskabel läuft, nimmt für jeden Temperaturunterschied von 1° C zwischen der Temperatur der äußeren Luft und des Ölbades die Temperatur des Ölbades um 0·004° C pro Minute ab, woraus hervorgeht, daß, um einen Temperaturunterschied von 1° C zwischen beiden Medien aufrechtzuhalten, eine Kraft von ungefähr 5 Watt nötig ist.

Bunzel[1]) hat einen dem soeben beschriebenen Ölthermostat ziemlich ähnlichen Luftthermostat beschrieben, welcher mittelst Elektrizität geheizt wird. Beide Fig. 149 und 150 geben eine Gesamtansicht dieses Thermostates. Aus der Fig. 151 ersieht man die Anordnung des Thermoregulators. Letzterer besteht aus einer gebogenen Glasröhre von 14 *m*

[1]) *Herbert H. Bunzel,* The measurement of the oxidase content of plant juice. U. S. Department of agriculture. Bureau of plant industry. Bulletin Nr. 238. Washington 1912.

Länge und ungefähr 2 *mm* inneren Durchmessers, welche sich in einem Holzrahmen befindet. Dieser Rahmen liegt senkrecht im Thermostat in einer Entfernung von zirka 3 *cm* von der Wand des Thermostates, so daß sich Luft rings um den Thermoregulator bewegen kann. Bei jeder Biegung wird die Glasröhre mittelst Metalldraht gestützt. Diese Glasröhre enthält Quecksilber, dessen Gewicht für jede senkrechte Abteilung der Röhre ungefähr 10 *g* entspricht. Da das eine Ende der gebogenen Glasröhre geschlossen ist, so kann sich die Quecksilbersäule nur auf- und abwärts in der senkrechten Abteilung bewegen, in welcher der Nickeldraht *A* (Fig. 152) auf- und abwärts bewegt werden kann. Sobald man diesen Nickeldraht *A* in die richtige Stellung gebracht hat, bleibt er in dieser Lage wegen der Reibung in der Kautschukröhre *R* (Fig. 151). Der durch den Elektromagnet des Relais laufende elektrische Strom schließt und öffnet sich am unteren Ende des Nickeldrahtes. Der andere Kontakt des Thermoregulators entsteht an seinem anderen Ende, wo mittelst des kurzen Platindrahtes *C* das Quecksilber der gebogenen Glasröhre mit dem Quecksilber des mit Quecksilber gefüllten Bechers *B* (Fig. 151) in Verbindung gebracht wird. Das Relais *N* (Fig. 152) entspricht 150 Ohms. Zwei Reihen von 3 parallel liegenden Trockensäulen *C* (Fig. 149) ergeben den elektrischen Strom, welcher die nötige Kraft dem Elektromagnet liefert. Der Unterbrecher *c'* (Fig. 152) dient zur Einschaltung des durch die Trockensäulen gelieferten elektrischen Stromes in das Relais des Thermo-

Fig. 150.



regulators. Falls irgend eine Störung des elektrischen Stromes der Trockensäulen vorkommt, wird der Unterbrecher *c'* (Fig. 152) ausgeschaltet und der Unterbrecher *k'* (Fig. 152) eingeschaltet. Dazu liefert der regelmäßige elektrische Lichtstromkreis den Strom, dessen Voltspannung auf $^1/_{10}$ seines ursprünglichen Wertes durch den Widerstand *R* (Fig. 152) verringert wird. Unter gewöhnlichen Umständen läuft nur ungefähr 0·02 Ampere durch den Thermoregulator: die Funkenbildung ist dann äußerst spärlich, wird aber noch mehr durch den Kondensator *K* (Fig. 152) verringert. Ein anderer Kondensator *K* (Fig. 152) wird quer durch die auf dem Relais befindlichen Kontakte benutzt.

Fig. 151.

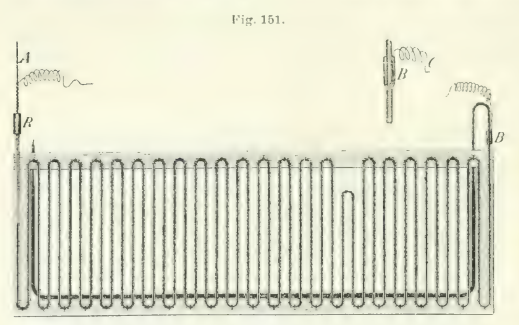
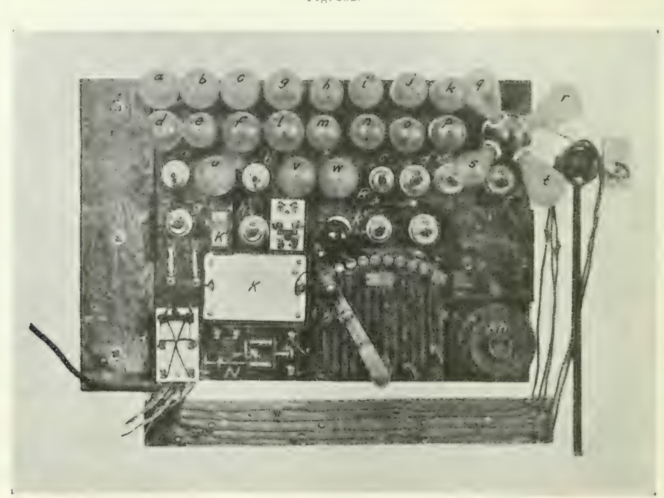


Fig. 152.



Wegen der niedrigen spezifischen Wärme des Luftmediums wird die Luft im Innern des Thermostates mittelst 2 Ventilatoren tüchtig bewegt, wovon der kleinere gleich hinter der Erwärmungsvorrichtung befindliche

F' (Fig. 150) bis zur Erreichung der erwünschten Temperatur benutzt wird. um dann durch den anderen größeren in der Mitte des Thermostates befindlichen F ersetzt zu werden. wodurch die innere Temperatur des Thermostates auf 0·1—0·2° C beständig bleibt.

Als Erwärmungsvorrichtung (Fig. 153) dient ein langer, auf einem Rahmen von Hartgummi und Asbest befestigter, dünner Draht, welcher von oben nach unten in mehreren fast wagerechten Linien läuft. Diese Erwärmungsvorrichtung entspricht einem Widerstand von 44 Ohms. Man kann die Stärke des durch die Erwärmungsvorrichtung laufenden elektrischen Stromes in sehr breiten Grenzen äußerst allmählich vermehren oder vermindern. Dies wird erreicht mittelst der Unterbrecher c', k' und i' (Fig. 152) sowie einer Reihe von 6 parallel montierten Lampen a, b, c, d, e, f und der 10 Lampen g, h, i, j, k, l, m, n, o, p, von welchen jede einer Leuchtkraft von 8, 16 oder 32 Kerzen entsprechen kann. Der Unterschied zwischen der tatsächlichen Temperatur des Thermostates und der erwünschten Versuchstemperatur wird mittelst der 4 Lampen q, r, s und t, der 2 Unterbrecher f' und e', des Relais und des Thermoregulators kontrolliert.

Fig. 153.

Falls man im Thermostat eine niedrigere Temperatur als die des umgebenden Mediums erreichen will, so bläst man im Eisbehälter I (Fig. 149) erkaltete Luft in den Thermostaten. Diese kalte Luft tritt durch die Öffnung O (Fig. 150) in den Thermostaten ein, während die warme Luft durch eine an der entgegengesetzten Seite des Thermostates befindliche, etwas schmalere Öffnung o' austritt. Beide Öffnungen werden mittelst vorschiebbarer Plättchen verschlossen. Ein kleines, in der Eismasse befindliches Gebläse S (Fig. 150) liefert kalte Luft durch die Öffnung O in den Thermostaten, sobald die tatsächliche Temperatur des Thermostates die erwünschte übersteigt. Sobald aber hingegen die Temperatur des Thermostates unter die erwünschte sinkt, bleibt der Motor des Ventilators F (Fig. 150) still und tritt die Erwärmungsvorrichtung durch das Relais wieder in Tätigkeit. Wenn das Relais den Hauptstromkreis schließt, läuft der elektrische Strom durch die 4 parallel stehenden Lampen q, r, s und t (Fig. 152): der Hauptteil des Stromes läuft nun durch die Erwärmungsvorrichtung, deren Wider-

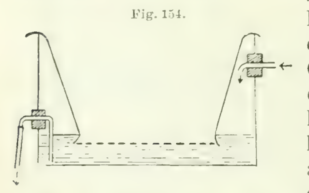
stand (44 Ohms) viel geringer als der des Motors des Ventilators *F* (ungefähr 1000 Ohms) ist: dadurch erhält dieser Motor nicht genügend Strom, um in Tätigkeit zu bleiben. Sobald der Stromkreis des Relais geöffnet ist, läuft der ganze elektrische Strom durch den Motor, so daß fast gleichzeitig die Erwärmung aufhört und kalte Luft in den Thermostaten geblasen wird. In demselben Stromkreise als das Gebläse befinden sich die 2 parallel stehenden Lampen *r* und *w* (Fig. 152), mittelst welcher man die Raschheit der Gebläsebewegungen verändern kann. Der Unterbrecher *b'* (Fig. 152) dient zur Abschaltung des Gebläses aus dem Stromkreise. Der Behälter *T* (Fig. 150) wird, je nach der erwünschten Temperatur, entweder mit Eis allein oder mit Eis und Salz gefüllt.

Für sehr niedrige Temperatur des Thermostates bedient man sich als Schunt nicht der Erwärmungsvorrichtung, sondern der parallel verbundenen 10 Lampen *g, h, i, j, k, l, m, n, o* (Fig. 152), welche mittelst des auf seiner niedrigsten Lage gebrachten Unterbrechers *i* mit dem Motor des Ventilators *F* verbunden werden. Auf diese Weise erzielt man für 10 Lampen von je 32 Kerzenleuchtkraft einen Widerstand von 44 Ohms, welcher viel geringer als der des Motors des Ventilators *F* ist.

Zu S. 165: Allgemeine Dialyseverfahren. Man kann auch Dialysierschläuche aus Fischblasenkondoms anwenden.[1])

Zu S. 172: Dialyse bei kontinuierlichem Wasserwechsel. Nach *Zsigmondy* und *Heyer*[2]) weisen die meisten Dialysatoren für beständiges Zu- und Abströmen des Wassers einen erheblichen Konstruktionsfehler auf, nämlich das frische Wasser wird auf den Boden des Gefäßes geleitet, das verunreinigte fließt oben ab. Zur rationellen Dialyse muß man hingegen das frische Wasser oben zufließen lassen, um die sich am Boden des Gefäßes ansammelnde konzentrierte Flüssigkeit von dort zu entfernen. Dies ist leicht durchführbar mittelst der in nebenstehender Fig. 154 veranschaulichten Vorrichtung.

Fig. 154.



Zu S. 172: Sterndialysator nach *Zsigmondy* und *Heyer.*[3]) Eine gegebene Flüssigkeitsmenge wird desto schneller durch Dialyse gereinigt, je größer die dialysierende Membranfläche und je dünner die

[1]) *E. Abderhalden* und *M. Kiutsi,* Die Diagnose der Schwangerschaft mittelst der optischen Methoden und dem Dialysierverfahren. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 77. S. 249—258 (1912).

[2]) *R. Zsigmondy* und *R. Heyer,* Über die Reinigung von Kolloiden durch Dialyse. Zeitschr. f. anorg. Chemie. Bd. 68. S. 169—187 (1910).

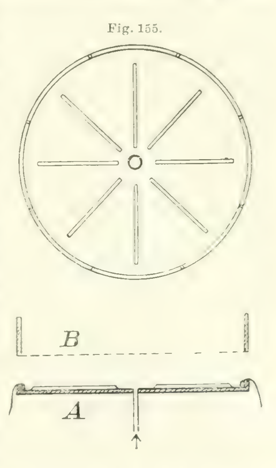
[3]) *R. Zsigmondy* und *R. Heyer,* Über die Reinigung von Kolloiden durch Dialyse. Zeitschr. f. anorg. Chemie. Bd. 68. S. 169—187 (1910). — Dieselben, Über einen neuen Dialysator. Zeitschr. f. Chem. u. Indust. d. Kolloide. Bd. 8. S. 123—126 (1911). — *R. Zsigmondy, E. Wilke-Dörfurt* und *A. v. Galecki,* Anwendung der Ultrafiltration in der analytischen Chemie. Ber. d. Deutschen chem. Ges. Bd. 45. S. 579—582 (1912).

Membran ist. Für eine gegebene Membran bestimmter Fläche verläuft die Dialyse desto rascher, je größer der Konzentrationsunterschied zwischen Außenwasser und Innenflüssigkeit ist. Dieser erreicht sein Maximum, wenn die Außenflüssigkeit die Konzentration 0 besitzt.

Um sich dieser Bedingung am meisten zu nähern, muß man die großen Wasserbehälter der gewöhnlichen Dialysatoren durch zylindrische Wassersäulen von großem Querschnitt und kleiner Höhe ersetzen und die Einrichtung so treffen, daß diese Wasserschicht durch das zuströmende Wasser möglichst rasch erneuert wird. Dies wird im *Zsigmondy-Heyer*schen Sterndialysator auf folgende Weise erreicht.

Ein mit einem 3—4 *mm* hohen Rande versehener flacher Teller *A* aus Hartgummi von 25 *cm* Durchmesser ist, wie die nebenstehende Fig. 155 es zeigt, in der Mitte durchbohrt. 8 schmale, 4 *mm* hohe, radial gestellte Leisten regeln die Wasserströmung und reichen bis auf 1—2 *cm* an den Rand heran. Auf den Rand des Tellers passend, von gleicher Wandstärke (4—5 *mm*) wie dieser, wird ein 40 *mm* hoher Hartgummiring *(B)* aufgesetzt, der an seinem unteren Rande die Dialysiermembran trägt.

Fig. 155.



Zwischen der Membran, die dem Ring und den Strahlenleisten aufsitzt, und dem Teller wird durch diese Einrichtung eine Wasserschicht von 4 *mm* Höhe eingeschlossen. Dieses Wasser wird von der Tellerbohrung aus fortwährend erneuert, wird durch die Leisten nach den Seiten hin verteilt und fließt schließlich durch kleine Einkerbungen am oberen Tellerrande ab. Das gleichmäßige Abfließen, das durch Horizontalstellung des Tellers schwer zu erreichen ist, wird durch Fließpapierstreifen, die zwischen Ring und Tellerrand eingeklemmt werden und so als Heber dienen, geregelt.

Um Kollodiummembranen unmittelbar am Ring des Sterndialysators zu befestigen, wird dieser Ring auf eine horizontal gestellte Spiegelglasplatte aufgesetzt. Hierauf wird eine genügende Kollodiummenge in die Mitte des Ringes eingegossen und durch Schwenken der Platte gleichmäßig verteilt. Nun hebt man den Ring, um etwas Kollodium nach außen treten zu lassen, setzt ihn wieder auf und bestreicht, um ein besseres Halten zu bewirken, noch den unteren Teil des äußeren Randes mit Kollodium, indem man den Ring mit einer Glasplatte lose bedeckt, um allzu rasches Verdunsten der Alkohol-Äthermischung zu verhindern. Nach genügendem, nicht zu weit getriebenem Eintrocknen wird Wasser in den Ring gegossen, worauf sich dieser samt der Kollodiumhaut von der Glasplatte ablösen läßt. Auf diese Weise läßt sich ein Ring von 25 *cm* Durchmesser ver-

hältnismäßig leicht mit einer durchsichtigen, dehnbaren und elastischen Kollodiummembran versehen. Als Kollodium benutzt man eine Mischung von 200 *cm*³ 6%igen Kollodiums. 200 *cm*³ Äther und 500 *cm*³ absoluten Alkohol.

Zu S. 174: Dialyse in Kollodiumsäckchen. Viele andere Vorschriften zur Darstellung von Kollodiummembranen sind noch angegeben worden.

Lillie[1]) überzieht das Innere einer Flasche mit einer 10%igen Lösung von Nitrozellulose in gleichen Teilen Alkohol und Äther, gießt die überschüssige Flüssigkeit ab, treibt durch einen Luftstrom die Lösungsmittel weg. Durch Eintauchen in heißes Wasser wird die Kollodiummembran leicht vom Innern der Flasche entfernt.

Kellermann[2]) bereitet auf ähnliche Art die Kollodiummembran. Er bedient sich aber eines Reagenzrohres geeigneter Dimensionen und benutzt entweder eine 10%ige Lösung von Nitrozellulose in absolutem Alkohol oder eine Lösung von 10 *g* Nitrozellulose in 150 *cm*³ Eisessig und 50 *cm*³ absoluten Alkohol. Nach Abgießen der überschüssigen Flüssigkeit läßt er die Kollodiumschicht 5 Minuten bis 1 Stunde trocknen, ehe er das Reagenzrohr in Wasser eintaucht.

Biltz und *v. Vegesack*[3]) tauchen ein dickwandiges Reagenzrohr oder Schmelzrohr aus Porzellan von den Dimensionen des zu verfertigenden Sackes in Kollodium ein, lassen die Kollodiumschicht trocknen und wiederholen dasselbe, bis die Membran die gewünschte Dicke hat. Die Kollodiumschicht wird unter dem dünnen Strahl der Wasserleitung von Alkohol befreit, bis das Wasser der Oberfläche anhaftet und nicht mehr in Tröpfchen wie auf einer fettigen Oberfläche darauf verteilt bleibt, was anfangs der Fall ist. Man schneidet überstehende Teile der Membran auf dem Glase mit einem scharfen Messer glatt ab, so daß ein rißfreier Rand entsteht, und schiebt und drückt mit beiden Daumen die stets feucht zu haltende Membran vom Glase herunter. Die Kollodiumsäcke werden auf einer Unterlage von Gummischlauch durch Ligaturen an entsprechend weite Glasröhren angedichtet und können dann für Dialysierversuche benutzt werden.

Malfitano[4]), *L. Michel* und *Eleonora Lazarus* haben gezeigt, daß das an Alkohol reichere Kollodium durchlässigere Membranen liefert als das an Äther reichere. Bei vorsichtiger Führung des Trocknungsvorganges oder der Erhitzung kann man die Durchlässigkeit einer Kollodiummembran in

[1]) *R. S. Lillie*, The influence of electrolytes and of certain other conditions on the osmotic pressure of colloidal solutions. Amer. Journ. of Physiol. Vol. **20**. P. 127 bis 169 (1907).

[2]) *K. K. Kellermann*, The permeability of collodion tubes. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. **34**. S. 56—60 (1912).

[3]) *W. Biltz* und *A. v. Vegesack*, Über die Rolle der Elektrolyte bei der Dialyse von Kolloiden. Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. **68**. S. 357—382 (1909).

[4]) *G. Malfitano*, Über den kolloidalen Zustand. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Eisenhydroxydchloridkolloide und ihre Forschung mittelst der Ultrafiltration. Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. **68**. S. 232—253 (1909).

jeder gewünschten Weise abstufen. Am vorteilhaftesten werden nach *Malfitano* 2·5—3·5% Nitrozellulose in einem Gemische von möglichst wasserfreiem Äther und absolutem Alkohol gelöst, welches 30—70 Teile Äther für 70—30 Teile Alkohol enthält. Man kann indes bis 5 und sogar 10% Nitrozellulose in der Äther-Alkoholmischung auflösen. Mit konzentrierten Kollodiumlösungen erhält man aber zu steife Membranen. Wenn der Gehalt des Kollodiums an Nitrozellulose weniger als 2% beträgt, so erzielt man zu zerbrechliche Membranen.

Die Durchlässigkeit der Kollodiummembranen vermindert sich mit ihrem Nitrozellulosegehalte, ihrem Äthergehalte, der Wasserabwesenheit in den Lösungsmitteln und der zu ihrem Trocknen benutzten Zeit. Der Zusatz gewisser Stoffe, wie Essigsäure z. B., zum Kollodium oder zu den zur Lösung der Nitrozellulose angewandten Flüssigkeiten vermehrt die Durchlässigkeit der Kollodiummembranen; der Zusatz anderer Stoffe, wie Kampfer oder gewisse Öle, vermindert sie hingegen.

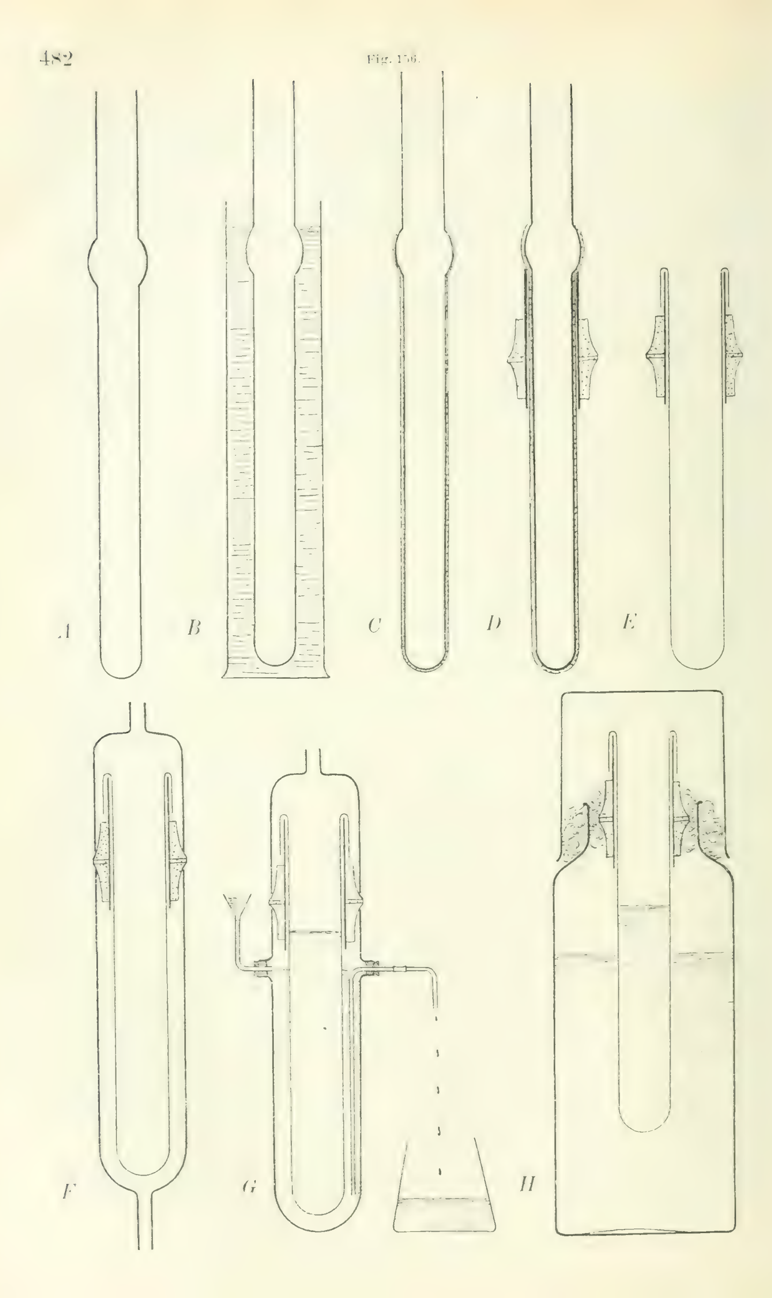
Nach *Gaucher*[1]) wechselt außerdem noch die Durchlässigkeit der Kollodiummembranen mit der Temperatur, bei welcher die Versuche vorgenommen werden. Sie nimmt bei 60° C ab, vermindert sich erheblich bei 90° C und verschwindet bei 100° C.

Nach *Kellermann* läßt sich der Durchlässigkeitsgrad einer Kollodiummembran auf folgende Weise am leichtesten annähernd schätzen: Man taucht die an einem Glasrohre befestigte Kollodiummembran in Wasser ein und gießt Wasser in das Kollodiumsäckchen ein. Man stellt den elektrischen Widerstand des Wassers fest, indem man eine Elektrode in das im Innern des Kollodiumsäckchens befindliche Wasser bringt und die andere in die äußerliche Wassersäule. Vergleicht man die so erhaltene Zahl mit der Zahl des elektrischen Widerstandes der gleichen Wassermenge unter denselben Bedingungen, aber ohne Anwesenheit der Kollodiummembran, so kann man den elektrischen Widerstand der im Wasser beiderseits eintauchenden Oberfläche der Kollodiummembran berechnen. Der elektrische Widerstand nimmt mit der zum Trocknen der Kollodiummembran angewandten Zeit zu und ist also desto größer, je geringer die Durchlässigkeit der Kollodiummembran für Elektrolyte ist und je länger deren Entfernung durch Dialyse beansprucht.

Zur Darstellung einer Kollodiummembran nach *Malfitano* wird möglichst homogenes Kollodium in ein zylindrisches Gefäß gebracht (Fig. 156 *B*). Als Mandrin dient eine äußerlich gut gereinigte Glasröhre (Fig. 156 *A*), welche am unteren Ende geschlossen ist und an den $^2/_3$ ihrer Höhe eine Erweiterung trägt. Man faßt diese Röhre an ihrem oberen Ende und taucht sie in das Kollodium bis am obersten Teile der Erweiterung (Fig. 156 *B*). Dann entzieht man sanft und senkrecht das Mandrin, so daß beim Heben der Röhre *A* der anhaftende Kollodiumüberschuß allmählich wieder in das

[1]) *L. Gaucher*, Sur l'ultrafiltration au collodion. Bull. des Sc. pharm. T. **19**. p. 129 bis 141 (1912).

Fig. 156.



Gefäß *B* fällt. Nachdem die von einer Kollodiumschicht bedeckte Röhre *A* völlig aus dem Gefäße *B* weggezogen ist, wird die Röhre *A* in wagerechte Stellung gebracht. Durch rasches Drehen dieser Röhre um ihre Achse verteilt man gleichmäßig das Kollodium. Nach genügender Trocknung der an der Röhre *A* haftenden Kollodiumschicht, wozu 3—5 Minuten wenigstens erforderlich sind, wird die Röhre *A* wieder in das Gefäß *B* getaucht und die ganze Prozedur 1-, 2- oder 3mal wiederholt. Um einen zu erheblichen Trocknungsgrad zu vermeiden, taucht man schließlich das die Kollodiummembran tragende Mandrin (Fig. 156 *C*) in kaltes destilliertes Wasser, wodurch das Lösungsmittel durch Diffusion entfernt wird. Bei Ersatz des destillierten Wassers durch mehr oder minder wässerigen Alkohol erzielt man biegsamere und durchlässigere Membranen.

Um Gasblasen bei der Darstellung der Kollodiummembranen zu vermeiden, empfiehlt sich, das Kollodium erst nach einigen Tagen Stehen in einem etwas warmen Orte zu gebrauchen. Arbeitet man dann bei einer niedrigeren Temperatur des umgebenden Mediums als die, bei welcher das Kollodium aufbewahrt wird und trägt man Sorge, daß die Röhre *A* nicht heißer als das Kollodium ist, so bilden sich keine Gasblasen.

Zur Dialyse befestigt man die Kollodiummembran auf eine kleine durch einen Kautschukpfropfen dringende Röhre (Fig. 156 *D*). Dieser Pfropfen hat die Gestalt von 2 durch ihre Grundfläche übereinander liegenden Kegeln. Die die Kollodiummembran tragende Röhre *C* wird in die andere Röhre *D* auf solche Weise gebracht, daß die Erweiterung der Röhre *C* gleich über den oberen Rand der Röhre *D* liegt (Fig. 156 *E*). Nachdem man mittelst eines kreisförmigen Schnittes in der Mitte der Erweiterung der Röhre *C* die Kollodiummembran von der sie tragenden Röhre *C* oben leicht entfernt hat, wird das obere Ende dieser Membran auf den oberen Rand der in *E* abgebildeten Röhre heruntergeklappt. Zwei mit offenen Röhrchen versehene Hülsen stehen mittelst des Kautschukpfropfens in Verbindung, durch welchen die zur Befestigung der Kollodiummembran dienende Röhre dringt (Fig. 156 *F*). Die obere Hülse dient als Deckel. Die untere erlaubt Luft durch das sie beengende Röhrchen langsam anzusaugen, wodurch die Kollodiummembran sich vom Mandrin *A* ablöst, welches man dann wegnimmt. Die Adhäsion der Kollodiummembran am oberen Rande und an der äußeren Oberfläche der sie nun tragenden Röhre *D* genügt meistens, um die Wasserdichtheit zu sichern. Wird das durch die mittelst des Kautschukpfropfens verbundenen beiden Hülsen gebildete Gefäß oben und unten durch geeignete Stopfen geschlossen und mit alkoholhaltigem Wasser gefüllt, so kann man die Kollodiummembran auf unbestimmte Zeit aufbewahren.

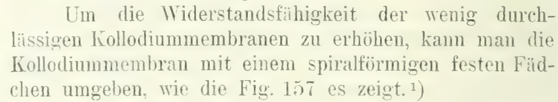
Vor dem Gebrauche werden beide Hülsen entfernt und die Kollodiummembran wird sorgfältig mit destilliertem Wasser ausgewaschen.

Zur Dialyse gegen einen Wasserstrom dient die Einrichtung *G* (Fig. 156). Die obere Hülse bleibt mit dem Kautschukpfropfen verbunden, die untere wird durch eine sich oben dem Kautschukpfropfen anpassende Röhre er-

setzt, welche oben mit 2 Öffnungen versehen ist. Beide Öffnungen sind mit Korkstopfen verschlossen, durch welche kleine gebogene Glasröhren dringen. Eine dieser Glasröhren ist nach oben gebogen und ihr oberes Ende wird durch einen Trichter gebildet. Die andere Glasröhre ist nach unten gebogen. Die erste Glasröhre dient zum Wassereintritte, die zweite zum Wasseraustritte.

Zur aseptischen Dialyse bedient man sich der Einrichtung *H* (Fig. 156). Der Kautschukpfropfen, durch welchen die die Kollodiummembran tragende Röhre dringt, wird nach Entfernung beider Hülsen mit Watte umgeben und in einen Kolben mit breitem Halse gebracht. Ein umgekehrtes Gefäß wird durch einen Wattestreifen an der äußeren Oberfläche des Kolbenhalses befestigt.

Fig. 157.



Um die Widerstandsfähigkeit der wenig durchlässigen Kollodiummembranen zu erhöhen, kann man die Kollodiummembran mit einem spiralförmigen festen Fädchen umgeben, wie die Fig. 157 es zeigt.[1])

Zum gleichen Zwecke gießt *Kellermann* essigsaure Kollodiumlösung (10 *g* Nitrozellulose, 150 cm^3 Eisessig, 50 cm^3 absoluten Alkohol) in eine Filtrierpapierhülse, wie die von der Firma *Schleicher & Schüll* für den *Soxhlet*schen Extraktionsapparat in den Handel gebrachte (s. Bd. 1, S. 184). Nachdem das Innere der Hülse überall mit Kollodium überzogen ist, wird die überschüssige Kollodiumlösung abgegossen. Dann taucht man sofort die Hülse in Wasser, wodurch das Kollodium auf der als Gerüst dienenden Hülse gerinnt. Die auf solche Weise mit einer semipermeablen Kollodiumschicht überzogene Hülse wird wie ein gewöhnliches Kollodiumsäckchen auf eine Glasröhre befestigt und als Dialysiervorrichtung benutzt.

Biltz und *v. Vegesack*[2]) stellen die Kollodiummembran unmittelbar auf einem als Gerüst dienenden Korbe aus Platindrahtnetz her, welcher oben mit einem umgebogenen mehrfach durchbohrten Platinrande versehen ist, mittelst welchem man die Kollodiummembran mit einer geeigneten Dialysiereinrichtung verbinden kann. Um die Kollodiumlösung darzustellen, werden 14 *g* Nitrozellulose in etwa 400 cm^3 eines Gemisches von 3 Teilen Alkohol und 1 Teil Äther aufgelöst. Eine kleine Nitrozellulosemenge bleibt dabei zuerst in trüber Suspension und setzt sich nur langsam ab. Deshalb muß man warten, bis die Flüssigkeit klar geworden ist und sie dann vom Niederschlage durch Abgießung trennen.

Zur Durchtränkung der Platinnetze mit Kollodium werden die Platinnetze in die mit Kollodium gefüllten Zylinder eingetaucht. Man läßt mög-

[1]) Die Firma *Poulenc Frères* in Paris liefert solche Kollodiummembranen.

[2]) *W. Biltz* und *A. v. Vegesack*, Über die Rolle der Elektrolyte bei der Dialyse von Kolloiden. Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. 68. S. 357—382 (1909).

lichst gleichmäßig abtropfen, schwenkt um und wartet, bis der Äther verdunstet ist, etwa 2—3 Minuten. Man muß diesen Trocknungsvorgang sehr sorgfältig ausführen, um gute Kollodiummembranen zu erhalten. Läßt man zu kurze Zeit trocknen, so bleibt Äther zurück und die Membran wird in Wasser undurchsichtig und brüchig. Bei zu langem Trocknen bilden sich Spannungszustände aus und die Membran verliert ihre Durchlässigkeit.

Die Membran wird nach dem ersten Trocknen verstärkt, indem man über das mit der Öffnung nach unten gehaltene Platinnetz Kollodium ausgießt und wieder trocknen läßt. Ein drittes Mal wird etwas Kollodium in das Innere des Netzes gegossen und schnell möglichst gleichmäßig verteilt. Man gießt den Überschuß schnell aus und trocknet. Schließlich wird der ganze Netzkorb noch kurze Zeit mit Kollodium gefüllt gehalten, ohne daß Kollodiumtropfen nach außen dringen. Die Membran wird kurze Zeit an der Luft getrocknet, mit Wasser gewaschen und ist dann gebrauchsfähig. Sie wird in alkoholhaltiges Wasser enthaltende verschlossene Glaszylinder aufbewahrt.

Nach *Malfitano* und *Zsigmondy*[1]) spielt die Kollodiummembran die Rolle einer semipermeablen Wand. Sobald sie sich mit der untersuchten Lösung geschwängert hat, läßt sie alle Moleküle und Mizellen, welche die Größe ihrer je nach ihrer Textur mehr oder minder breiten Poren nicht übersteigen, durchdringen. Adsorptionserscheinungen müssen aber außerdem noch in Betracht gezogen werden, so daß man nicht immer bei Dialyseversuche in Kollodiummembranen zuverlässige Ergebnisse erzielt.

Zu S. 193: Gewinnung von Magensaft. Man kann für gewisse Zwecke Mageninhalt beim Hunde durch Erbrechen erhalten. Dazu kann man den Dünndarm durch Aufblasen eines Gummiballons ausdehnen, was sehr leicht nach *Cohnheim* und *Dreyfus*[2]) Brechbewegungen und Hinausbeförderung des Mageninhaltes hervorruft. Zum gleichen Zwecke bedient sich *A. Müller*[3]) einer subkutanen Einspritzung von je 1—2 cm^3 einer $1^0/_0$igen Apomorphinchlorhydratlösung. Einige Minuten nach dieser Einspritzung erhält man den Mageninhalt, welcher entweder auf einmal oder auch manchmal portionenweise erbrochen wird. Um sicher zu sein, daß man den ganzen Mageninhalt auf diese Weise erhält, geben *Tangl* und *Erdélyi*[4]) einige Minuten nach dem Erbrechen dem Versuchstiere 100 bis 200 cm^3 warmes Wasser mittelst der Schlundsonde und verursachen durch eine neue Einspritzung von 1 *cg* Apomorphin wieder Erbrechen. Das dann

[1]) *G. Malfitano,* Cristalloides et colloides ou état moléculaire et état micellaire. Recherches sur les systèmes hydro-oxy-chloro-ferriques. Annales de chimie et de physique. 8ème série. T. **24**. p. 502—553 (1911); T. 25. p. 159—253 (1912). — *R. Zsigmondy,* Aus dem Gebiete der Kolloidchemie. Zeitschr. d. österr. Ing.- u. Archit.-Ver. Nr. 46 (1909).

[2]) *O. Cohnheim* und *G. L. Dreyfus,* Zur Physiologie und Pathologie der Magenverdauung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 58. S. 50—83 (1908).

[3]) *A. Müller,* Beiträge zur Physiologie des Verdauungskanales. *Pflüger*s Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **110**. S. 163—170 (1907).

[4]) *Fr. Tangl* und *A. Erdélyi,* Über die Bedeutung des Schmelzpunktes der Fette für die Geschwindigkeit ihrer Entleerung aus dem Magen. Biochem. Zeitschr. Bd. **34**. S. 94—110 (1911).

erhaltene Wasser enthält meistens keinen Mageninhalt. 2—5% der eingenommenen Fette bleiben jedoch an der Magenschleimhaut haften. In welchem Grade dieses Haften für Proteine, Kohlehydrate, Salze in Betracht zu ziehen ist, muß zurzeit noch als völlig unbekannt angenommen werden. Die Gewinnung von Magensaft durch Erbrechen kann also nur zu vergleichenden qualitativen Versuchen benutzt werden, keineswegs aber zu quantitativen Untersuchungen oder zu Resorptionsversuchen.

Zu S. 193: Magensekretin. Durch Behandlung mittelst Salzsäure erzielt man aus Pylorus-, Duodenum-, Jejunum-Ileumschleimhaut, Leber, Pankreas und Dickdarminhalt des Hundes stets einen Auszug, welcher bei subkutaner Einspritzung Magensaftabsonderung hervorruft. Die Pylorusschleimhaut scheint den wirksamsten Auszug zu liefern. Salzsaure Extrakte von Dickdarmschleimhaut, Milz, Submaxillaris, Parotis und Dünndarminhalt ergeben manchmal eine geringe Magensaftabsonderung. [1])

Zu S. 197: Darstellung von pepsinarmer Chymosinlösung nach *Hammarsten*. [2]) Man mischt eine saure Kalbsmageninfusion mit einer neutralen Alkalikaseinatlösung in solchen Verhältnissen, daß das zuerst ausfallende Kasein von der Säure wieder gerade aufgelöst wird. Diese saure Kaseinlösung wird nun mit nur soviel dezinormaler Natronlauge versetzt, daß eine reichliche Kaseinausfällung bei noch stark saurer Reaktion stattfindet und die Filtration leicht vor sich geht. Das ausfallende Kasein reißt hierbei zwar beide Enzyme nieder, aber jedoch viel mehr Pepsin wie Chymosin. Auf diese Weise erhält man ein wasserklares, sauer reagierendes Filtrat, welches ein ganz anderes Verhältnis zwischen Pepsin- und Chymosinwirkung als die ursprüngliche Infusion zeigt.

Zu S. 200: Darmsaftgewinnung. Die Einführung in eine *Thiry-Vella*sche Darmfistel von einer dezinormalen Salzsäure entsprechenden wässerigen Milchsäurelösung, von in Galle gelöster Oleinsäure, von 20%igem Alkohol, von 5%iger Seifenlösung, von gesättigter wässeriger Ätherlösung bewirken sowohl beim fastenden als beim im Verdauungszustande befindlichen Hunde Darmsaftabsonderung. [3])

[1]) *Walter Gross*, Beitrag zur Kenntnis der Sekretionsbedingungen des Magens nach Versuchen am Hund. Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. **12**. S. 507—516 (1906). — *L. Popielski*, Über den Charakter der Sekretionstätigkeit des Pankreas unter dem Einflusse von Salzsäure und Darmextrakt. *Pflüger*s Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **121**. S. 239—264 (1908). — Derselbe, Über die physiologische Wirkung von Extrakten aus sämtlichen Teilen des Verdauungskanales (Magen, Dick- und Dünndarm), sowie des Gehirnes, Pankreas und Blutes, und über die chemischen Eigenschaften des darin wirkenden Körpers. Ibid. Bd. **128**. S. 191—221 (1909). — *O. Emsmann*, Über hämatogene Erregung von Magensekretion durch salzsaure Extrakte der großen drüsigen Organe des Körpers und des Darminhaltes. Int. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen. Bd. **3**. S. 117 bis 130 (1911). — *R. Ehrmann*, Physiologische und klinische Untersuchungen über die Magensaftsekretion. Ibid. Bd. **3**. S. 382—428 (1912).

[2]) *O. Hammarsten*, Über die Darstellung von pepsinarmen oder pepsinfreien Chymosinlösungen. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **74**. S. 142—168 (1911).

[3]) *U. Lombroso*, Contributo alla fisiologia dell'intestino. I. La secrezione enterica. Arch. di farmac. sper. e scienze affini. Vol. **9**. p. 262—298 (1911). — Derselbe, Con-

Zu S. 205: Sekretin. Man erhält Sekretinlösung durch Ausziehen der geschabten zermalmten Duodenojejunalschleimhaut des Hundes mit verdünnten Säuren, 70%igem Alkohol, gewöhnlichem Methylalkohol, einem Gemische von 60 *cm*³ Azeton und 30 *cm*³ Wasser, starke Seifenlösungen und in geringem Grade durch Glyzerin und Natriumtaurocholat. Reines Azeton, wasserfreier Äther und absoluter Alkohol ergeben hingegen keine Sekretinlösung unter diesen Bedingungen.[1]) Behandelt man die geschabte zermalmte Duodenojejunalschleimhaut des Hundes mit reinem Aceton, wasserfreiem Äther oder absolutem Alkohol, trennt man das so bereitete Pulver von der Flüssigkeit und läßt man es trocknen, so genügt es nach *Stepp*[2]), dieses Pulver mit 0·4%iger Salzsäure zum Sieden zu erhitzen, um eine Sekretinlösung darzustellen.

Zur Reinigung des Sekretins verfährt man nach *Stepp*[2]) auf folgende Weise: Man verdampft zum Trocknen auf dem Wasserbade eine mittelst 0·4%iger Salzsäure nach dem durch *Bayliss* und *Starling* beschriebenen Verfahren (Bd. III, S. 205) dargestellte Sekretinlösung. Man löst den Rückstand in 70%igem Alkohol. Man filtriert und fügt zum Filtrate ungefähr 9 Volumina absoluten Alkohols, wodurch ein etwas Sekretin mitreißender Natriumchloridniederschlag entsteht, von welchem man die Flüssigkeit abfiltriert. Man versetzt das neue Filtrat mit einem Volumen Äther. Das Sekretin wird größtenteils gefällt. Dieser Sekretinniederschlag wird auf einem Filter gesammelt, mit Äther ausgewaschen und trocken aufbewahrt. Man kann daraus zu jeder Zeit mittelst destillierten Wassers eine Sekretinlösung darstellen.

Lalou[3]) läßt die im *Latapie*schen Apparate zermalmte Duodenojejunalschleimhaut des Hundes mit 4 Gewichtsteilen Flüssigkeit mazerieren, neutralisiert, erwärmt zum Sieden und filtriert. Auf diese Weise erhält

---

tribution à la physiologie de l'intestin. I. La sécrétion entérique. Arch. ital. de biol. T. **56**. p. 17—50 (1911).

[1]) *E. Gley,* Des modes d'extraction de la sécrétine; un nouvel excitant de la sécrétion pancréatique. Compt. rend. de l'Acad. des Sciences. T. **151**. p. 345 (1910). — *J. Studzinski,* Über den Einfluß der Fette und Seifen auf die sekretorische Fähigkeit des Pankreas. Int. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen. Bd. **3**. S. 287 bis 322 (1911). — *A. Frouin,* Nouvelles observations sur l'action de la peptone sur la sécrétion pancréatique. Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. **71**. p. 15—17 (1911). — *E. Gley,* Action élective des albumoses sur la sécrétion pancréatique. Ibid. T. **71**. p. 82—84 (1911). — *C. Delezenne* et *E. Pozerski,* Sur la préexistence de la sécrétine dans la muqueuse intestinale et sur les différents procédés d'extraction de cette substance. Ibid. T. **72**. p. 560—567 (1912).

[2]) *W. Stepp,* On the preparation of secretin. Journ. of Physiol. Vol. **43**. p. 441 to 448 (1912).

[3]) *A. Frouin* et *S. Lalou,* Variations de la production de sécrétine in vitro dans les macérations de muqueuse intestinale et en présence de divers acides. Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. **71**. p. 189—191 (1911). — Dieselben, Influence de la concentration de divers acides sur la production de la sécrétine in vitro. Ibid. T. **71**. p. 241—243 (1911). — *S. Lalou,* Procédés d'extraction de la sécrétine et mécanisme humoral de la sécrétion pancréatique. Journ. de physiol. et de pathol. génér. T. **14**. p. 241—252 et 530—539 (1912).

man Sekretinlösung durch sehr viel Säuren (HCl, HI, HNO^3, H^2SO^4, H^3PO^4, Essigsäure, Monochloressigsäure, Dichloressigsäure, Trichloressigsäure, Borsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Weinsteinsäure, Oxalsäure), durch Salze (NaI, NaCl, $NaNO^3$, Na^2SO^4, Na^2HPO^4, Natriumborat), durch Kristalloide (Saccharose, Glykose). Bei Anwendung von Borsäure, von Natriumchlorid und von den anderen Salzen muß man sofort zum Sieden erhitzen, während man hingegen bei Anwendung von Salzsäure gute Ergebnisse erzielt, wenn eine 12- bis 24stündige Maceration der eigentlichen Extraktion vorhergeht. Dies rührt davon her, daß im neutralen Medium das Sekretin vom Erepsin zerstört wird. Das Erhitzen im salzsauren Medium soll nicht zu lang dauern, denn die Säuren zerstören das Sekretin in der Wärme. Die Basen tun dies in noch viel ausgeprägterem Grade in der Wärme und selbst bei gewöhnlicher Temperatur.[1])

Für die Salzsäure und die anderen starken Mineralsäuren besteht ein der dezimolekularen Lösung entsprechendes Optimum. Das Extraktionsvermögen der organischen Säuren steigt deutlich mit der Konzentration der Lösung bis zu den Löslichkeitsgrenzen. Das Extraktionsvermögen der starken Mineralsäuren steht mit deren Spaltungsgrad in ziemlich regelmäßigem Zusammenhange. Die schwachen Mineralsäuren und die organischen Säuren wirken, außer durch ihre freie Ionen, hauptsächlich durch die Zahl der gelösten Moleküle. Für die Salze besteht ein der Molekularlösung entsprechendes Optimum; ihr Extraktionsvermögen hängt von ihrem Spaltungsgrade und ihrer Molekularkonzentration ab. Das Extraktionsvermögen der Saccharose und der Glykose wächst mit der Zahl der Moleküle und hängt nur von dieser ab.

Man kann noch eine Sekretinlösung erhalten, wenn man die abgeschabte Duodenojejunalschleimhaut der Einwirkung gewisser Spaltungsagenzien der Zellen unterwirft (Seifen, Gallensalze, Chloroformdämpfe).[2])

Zu S. 206. Gewinnung von Pankreassaft. Man kann sich der *Cohnheim*schen Duodenalfistel zur Gewinnung von Pankreassaft beim Hunde bedienen. Dazu wird der Ductus choledochus zwischen zwei Unterbindungen durchschnitten, eine Anastomose zwischen der Gallenblase und

---

[1]) *S. Lalou*, Sur le mode d'action de la sécrétine. Journ. de physiol. et de path. génér. T. **13**. p. 343—352 (1911). — Derselbe. Recherches sur quelques agents destructeurs de la sécrétine. Ibid. T. **14**. p. 465—475 (1912).

[2]) *E. Gley*, Action des différents solvants de la sécrétine et des excitants de la sécrétion pancréatique et leur classification. Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. **72**. p. 465—468 (1912). — *C. Delezenne* et *E. Pozerski*, Sur la préexistence de la sécrétine dans la muqueuse intestinale et sur les différents procédés d'extraction de cette substance. Ibid. T. **72**. p. 560—567 (1912). — *E. Gley*, Sur les excitants de la sécrétion pancréatique, classification rationelle de ces substances. Journ. de physiol. et de pathol. génér. T. **14**. p. 509—520 (1912). — *C. Delezenne* et *E. Pozerski*, Action de l'extrait aqueux d'intestin sur la sécrétine. Introduction à l'étude des divers procédés d'extraction de cette substance. Ibid. T. **14**. p. 521—529 (1912). — Dieselben, Sur la préexistence de la sécrétine dans la muqueuse intestinale et sur les différents procédés d'extraction de cette substance. Ibid. T. **14**. p. 540—553 (1912).

einer Jejunumschlinge hergestellt und schließlich die Duodenalfistel angelegt. Auf diese Weise läuft keine Galle ins Duodenum, sondern tiefer in den Dünndarm. Bei einem solchen Hunde wird im nüchternen Zustande langsam 0·25%ige Salzsäure oder ein anderer Erreger der Pankreassaftabsonderung in die Duodenalfistel eingespritzt. Der abgesonderte Pankreassaft läuft aus der Kanüle heraus. Da er mit der Dünndarmschleimhaut in Berührung kommt, enthält er Trypsin, ist also proteolytisch wirksam auf geronnene Proteine. Außerhalb der Versuche befindet sich der Hund fast unter ganz normalen Verdauungsverhältnissen.

Salzsäure ist der stärkste Erreger der Pankreassaftabsonderung. Die sogenannte „gebundene Salzsäure" wirkt erheblich schwächer. Mageninhalt wirkt nicht anders als ein Gemisch von Salzsäure und Proteosen von gleicher Azidität. Wasser und *Witte*-Pepton (Proteosen) rufen eine schwache Pankreassaftabsonderung hervor. Dies ist auch für Öl der Fall, während Seife hingegen einen sehr starken Erreger der Pankreassaftabsonderung darstellt.[1])

Um die Absonderung des Pankreas nach Durchschneidung der diese Drüse mit dem Verdauungsrohr verbindenden Nervenapparate mit der Absonderung der normalen Drüse zu vergleichen, hat *Lombroso*[2]) folgende Methode einer partiellen Pankreasfistel ersonnen, welche eigentlich nur eine Veränderung eines durch *Burckhardt* und *Minkowski* vorgeschlagenen Verfahrens darstellt.

Nach Eröffnung des Bauches und Bloßlegung des Pankreas wird der Processus uncinatus, d. h. das frei von jeder Verwachsung mit dem Duodenum gegen die aborale Gegend vorspringende Pankreassegment, zwischen zwei Einschnürungen abgeschnitten, so nahe als möglich am Duodenum abgetrennt und von jeder Verwachsung mit dem Bauchfelle befreit, so daß es nur noch mit den großen Gefäßen vereinigt bleibt, die vom entgegengesetzten Ende her eindringen.

Nachdem dies geschehen ist, wird ein Schlitz im Bauchfelle gemacht, dessen Stelle der Länge und Lage des Gefäßstieles entsprechend zu wählen ist, und man führt durch ihn eine starke Darmpinzette ein, die man bis zum subkutanen Gewebe versenkt, in diesem eine Strecke weit vorschiebt, die der Länge des isolierten Segmentes entspricht, und sie dann durch einen anderen Schlitz austreten läßt, den man in der Bauchhaut angebracht hat. Indem man dann die Pinzette weiter schiebt, grenzt man einen subkutanen Kanal ab, der auf einer Seite mit der Bauchhöhle, auf der

[1]) *O. Cohnheim* und *Th. Klee*, Zur Physiologie des Pankreas. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 78. S. 464—484 (1912).

[2]) *Burkhardt*, Über die Leistungen verlagerter Pankreasstücke für die Ausnützung der Nahrung im Darme. Inaug.-Diss. Greifswald. — *U. Lombroso*, Sulla funzione del pancreas non segregante nell'intestino, nell'assorbimento alimentare. Arch. di Fisiol. Vol. 8. p. 209—238 (1910). — Derselbe, Sul determinismo della secrezione pancreatica: riflesso od ormone. Arch. di Farmacol. sper. e scienze affini. Vol. 12. p. 3—25 (1911). — Derselbe, Über den Determinismus der Pankreassekretion. Reflex oder Hormon? Folia neuro-biologica. Bd. 5. S. 602—617 (1911).

anderen mit der Hautoberfläche in Verbindung steht. Der Processus uncinatus wird in diesen Kanal so eingeführt, daß seine blutige Fläche um einige Millimeter über die Hautöffnung hervorragt.

Bei richtiger Ausführung der Operation erhält man ein Pankreassegment, welches seine Absonderung nach außen und seine Ernährung unverändert beibehält. Falls man die den Gefäßstiel begleitenden Nervenfasern ausschließen will, kann man nach Verlauf einer für die Bildung neuer Gefäße genügenden Zeit den Nervengefäßstiel in seiner Gesamtheit unterbinden und durchschneiden, ohne daß nach *Lombroso* unter geeigneten Bedingungen die Menge oder die Eigenschaften der Pankreasabsonderung dadurch Veränderungen erleiden.

Zu S. 210. Gewinnung eines durch Kinasezusatz nicht aktivierbaren Pankreassaftes. Wird Pankreassaft gegen destilliertes Wasser dialysiert, so verliert er die Eigenschaften, nach Kinasezusatz auf geronnene Proteine einzuwirken. Nach *Schaeffer* und *Terroine*[1]) sowie *Lalou*[2]) enthält dieser Pankreassaft zwar noch Ereptase, aber keine Protryptase mehr.

Zu S. 210. Gewinnung eines spontan aktiven Pankreassaftes. Nach der intravenösen Einspritzung von 2 bis 5 *mg* Cholin pro Kilogramm wird beim Hunde Pankreassaft abgesondert, welcher von selbst auf geronnene Proteine wirkt.[3]) Der nach intravenöser Einspritzung von Äther[4]), Chloral[5]) oder Trimethylamin abgesonderte Pankreassaft wirkt auch wahrscheinlich ohne Enterokinase oder $CaCl^2$-Zusatz auf geronnene Proteine.[6])

Zu S. 210. Im Pankreassaft enthaltene Fermente. Die Anwesenheit einer Ereptase, außer dem Trypsinogen, beim im Hunde aus dem Hauptausführungsgange des Pankreas aseptisch erhaltenen, tryptisch inaktiven Pankreassafte scheint aus den Untersuchungen von *Schaeffer* und *Terroine* sowie von *E. Zunz* hervorzugehen.[7]) Nach neueren Versuchen von

[1]) *G. Schaeffer* et *E. F. Terroine,* Les ferments protéolytiques du suc pancréatique, trypsine et érepsine, 2ème mémoire. Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. T. **11**. p. 905—919 (1910).

[2]) *S. Lalou,* Recherches sur la sécrétine et le mécanisme de la sécrétion pancréatique. Thèse de Paris 1912.

[3]) *A. Desgrez,* De l'influence de la choline sur les sécrétions glandulaires. Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. **64**. p. 839—841 (1902).

[4]) *L. Popielski,* Über die reflektorische Tätigkeit des Pankreas. Zentralbl. f. Physiol. Bd. **16**. S. 43—45 (1902).

[5]) *R. Gottlieb,* Beiträge zur Physiologie und Pharmakologie der Pankreassekretion. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. **33**. S. 261—285 (1894).

[6]) *E. Gley,* Action des différents solvants de la sécrétine et des excitants de la sécrétion pancréatique et leur classification physiologique. Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. **72**. p. 465—468 (1912).

[7]) *G. Schaeffer* et *E. F. Terroine,* Les ferments protéolytiques du suc pancréatique, trypsine et érepsine. Journ. de Physiol. et de Patholog. gén. T. **12**. p. 884—890 et 905—919 (1910). — *E. Zunz,* Action du suc pancréatique sur les protéines et les protéoses. Arch. intern. de Physiol. T. **11**. p. 191—194 (1911). — *U. Lombroso,* Sulla ereptasi del secreto pancreatico raccolto dopo svariate alimentazioni. Int. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen. Bd. 3. S. 333—346 (1911).

Lombroso[1]) enthält jedoch der Pankreassaft vielleicht eine einzige Protease, welche sich darin im wirksamen Zustande, ohne Mitwirkung jeder anderen Faktoren, schon befindet und keineswegs nur als Proenzym.

Der menschliche Pankreassaft enthält wahrscheinlich eine Ereptase. Das Bestehen eines besonderen Labfermentes ist keineswegs als sicher bewiesen zu betrachten. Nuklease scheint im Pankreassafte zu fehlen. Andrerseits enthält der menschliche Pankreassaft vielleicht eine Peptidase.[2])

Zu S. 211: Pankreaslipase. *Rosenheim* und *Shaw-Mackenzie*[3]) versetzen frisches Schweinepankreas mit 2 Teilen Glyzerin. Nach 24 Stunden wird durch Musselin filtriert. Man erhält so einen schwach sauren, trüben, sehr wirksamen Saft, welcher ein emulgiertes Fett energisch angreift. Bei Verdünnung des Glyzerinextraktes aus Pankreas mit Wasser bildet sich ein weißer Niederschlag, der abzentrifugiert ebensowenig wie die überstehende Flüssigkeit lipolytisch wirksam ist, während hingegen beide vereint eine ausgesprochene lipolytische Wirksamkeit besitzen. Das Filtrat enthält ein beim Kochen wirksam bleibendes Co-Enzym. Der Niederschlag verliert beim Kochen seine Wirksamkeit; er enthält die inaktive Lipase, welche man leicht als trockenes Pulver aufbewahren kann.

Hamsik[4]) bereitet mittelst Alkohol und Äther aus Schweinepankreas ein Trockenpulver, von welchem 1 *g* mit 100 *cm*³ Glyzerin ½ Stunde bis 3 Tage in Berührung bleibt. Dann wird die Flüssigkeit wiederholt durch Papier und schließlich durch *Chamberland*-Kerze filtriert.

Zu S. 218: Isolierung der Abbauprodukte der Verdauung der Kohlehydrate. Die Methode von *Stanley R. Benedict* zur Zuckerbestimmung wurde neuerdings von ihm selbst etwas verändert.[5]) Andere Verfahren wurden von *Bang*[6]) und *Flatow*[7]) angegeben.

Zu S. 220: Feststellung der Ester- und Fettspaltung mittelst physikalisch-chemischem Verfahren. Die Glyzerinester (Monobutyrin, Triolein usw.) erniedrigen in sehr ausgeprägtem Maße die Oberflächenspannung des Wassers, während ihre Spaltprodukte (Glyzerin und Salze der niederen Fettsäuren) die Oberflächenspannung des Wassers kaum ändern. Daraus geht hervor, daß, je vorgeschrittener die Verdauung dieser

[1]) *U. Lombroso*, Contributi alla conoscenza degli enzimi proteolitici. Nota I. Sulla „cosidetta" ereptasi del secreto pancreatico. Arch. di Fisiol. Vol. **10**. pag. 318—338 (1912).

[2]) *K. Glaessner* und *A. Stauber*, Beziehungen zwischen Trypsin und Erepsin. Biochem. Zeitschr. Bd. **25**. S. 204—214 (1910). — *J. Wohlgemuth*, Untersuchungen über den Pankreassaft des Menschen. Ibid. Bd. **39**. S. 302—324 (1912). — *K. Glaessner*, Untersuchungen über den Pankreassaft des Menschen. Ibid. Bd. **41**. S. 325—327 (1912).

[3]) *O. Rosenheim* and *J. A. Shaw-Mackenzie*, On pancreatic lipase. Proceed. of the Physiol. Soc. 19. Feb. 1910. p. VIII—XII. in Journ. of Physiol. Vol. **40** (1910).

[4]) *A. Hamsik*, Zur Kenntnis der Pankreaslipase. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **71**. S. 238—251 (1911).

[5]) *Stanley R. Benedict*, A method for the estimation of reducing sugars. Journ. of biol. Chem. Vol. **2**. p. 57—59 (1911).

[6]) Cf. d. Handb. Bd. **2**. S. 170—171.

[7]) *Flatow*, Ein neues titrimetrisches Verfahren zur Bestimmung besonders von kleinen Zuckermengen. Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **105**. S. 58—69 (1912).

Glyzerinester ist, je geringer ist die Oberflächenspannungserniedrigung und je kleiner die am *Traube*schen Apparate ermittelte Tropfenzahl.[1]) Für die Feststellung des Grades der Ester- und Fettspaltung genügt die Feststellung des stalagmometrischen Index oder der Tropfenzahl der untersuchten Verdauungsflüssigkeit bezogen auf ein Normalstalagmometer, welches 100 Normalwassertropfen bei 15° C ergibt.[2])

Bei Anwendung von Verbindungen, welche, wie Lauryl-d-Alanin, Myristil-d-Alanin, Palmityl-d-Alanin, Stearyl-d-Alanin, optisch wirksam sind, kann man ihre Spaltung durch die Verdauungssäfte mittelst des *Abderhalden*schen optischen Verfahrens verfolgen.[3])

Beide Methoden, die stalagmometrische und die optische, sind nur in ganz besonderen Fällen, bei Gebrauch von bekannten, relativ einfachen Estern, anwendbar, nicht aber wenn man mit Fettgemischen arbeiten muß.

Wie *Izar*[3]) es mit Recht hervorhebt, bietet die optische Methode der stalagmometrischen gegenüber den Vorteil, Ergebnisse von fast mathematischer Zuverlässigkeit zu liefern, so daß sie bei Versuchen mit optisch wirksamen Stoffen vorzuziehen ist. Wenn man jedoch optisch wirksame Ester untersucht, welche infolge ihrer geringen Löslichkeit in Wasser keine großen Schwankungen des Drehungswinkels liefern, kann manchmal die stalagmometrische Methode empfindlicher sein als die Messung der Änderung des optischen Drehungsvermögens.

Zu S. 220: Verfahren von *St. v. Pesthy* zur Feststellung des Spaltungsgrades einer Fettemulsion. Nach der festgestellten Versuchsdauer werden, sowohl vom eigentlichen Verdauungsgemische als vom Kontrollgemische mit Anwendung der gekochten Fermentlösung, 3 genau abgemessene Teile entnommen.

1. Der erste Teil wird mit Petroleumäther gut ausgeschüttelt. Ein aliquoter Teil des Petroleumäthers wird mit alkoholischer dezinormaler Kalilauge unter Anwendung des Phenolphtaleins als Indikator titriert. Aus der verbrauchten Kalilaugenmenge der Verdauungsprobe, wovon man die in der Kontrollprobe unter denselben Bedingungen verbrauchte Kalilaugenmenge entzogen hat, berechnet man die Menge der abgespaltenen Fettsäuren.

2. Der zweite Teil wird nach dem Verfahren von *Liebermann* und *Székely* verseift und dient zur Bestimmung der gesamten (freien und gebundenen) Fettsäuren mit alkoholischer dezinormaler Kalilauge.

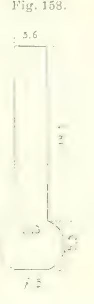
Zur Verseifung kocht man, unter öfterem Umschwenken, die Verdauungsprobe, deren Fettgehalt 5 *g* nicht übersteigen darf (oder die Kontrollprobe) mit 30 cm^3 50%iger Kalilauge (spez. Gew. 1·540) eine halbe

[1]) *P. Rona* und *L. Michaelis*, Über Ester- und Fettspaltung im Blute und im Serum. Biochem. Zeitschr. Bd. **31**. S. 345—364 (1911). — *P. Rona*, Über Esterspaltung in den Geweben. Ibid. Bd. **32**. S. 482—480 (1911). — *H. Davidsohn*, Untersuchungen über das fettspaltende Ferment des Magensaftes nebst Angaben zur quantitativen Bestimmung desselben. Berliner klin. Wochenschr. Bd. **49**. S. 1132—1134 (1912).

[2]) *J. Traube*, d. Handb. Bd. 5. S. 1357—1370. — *E. Zunz*, A propos du mode d'action de la sécrétine sur la sécrétion pancréatique. T. 8. p. 181—203 (1909).

[3]) *G. Izar*, Studien über Lipolyse. Biochem. Zeitschr. Bd. **40**. S. 390—419 (1912).

Stunde auf einem Asbestdrahtnetze in einem besonderen Kolben, dessen Gestalt und Dimensionen in der nebenstehenden Fig. 158 wiedergegeben sind. Dieser Kolben faßt bis zur Mitte des Halses ungefähr 290 *cm*³ und ist bei 240 *cm*³ mit einer Marke versehen.


Fig. 158.

Nach dem Abkühlen versetzt man mit 30 *cm*³ 90—94%igen Alkohols und erwärmt noch während 10 Minuten. Dann wird abgekühlt und vorsichtig, unter häufigem Umschwenken, allmählich mit 100 *cm*³ 20%iger Schwefelsäure angesäuert. Die fortwährend stark abgekühlte Flüssigkeit wird mit 50 *cm*³ Petroleumäther versetzt. Der Kolben wird gut verschlossen und 30mal in Zwischenräumen von 1—2 Minuten etwa 10 Sekunden tüchtig durchgeschüttelt.

Nun füllt man mit gesättigter Natriumchloridlösung auf, so daß die gesamte Flüssigkeit bis zur Mitte des Kolbenhalses, die unter dem Petroleumäther befindliche wässerige Lösung aber bis zur Marke (240 *cm*³) reicht, schüttelt noch einigemal durch und läßt den verschlossenen Kolben an einem kühlen Orte stehen. Der die gesamten Fettsäuren enthaltende Petroleumäther scheidet sich bald an der Oberfläche der wässerigen Flüssigkeit ab. Man stellt das Volumen der Petroleumätherlösung fest und entnimmt einen aliquoten Teil der Petroleumlösung, welchem man das doppelte Volumen säurefreien 96%igen Alkohols und 1 *cm*³ 1%iger alkoholischer Phenolphtaleinlösung hinzufügt, worauf mit dezinormaler alkoholischer Kalilauge titriert wird.

3. Der dritte Teil wird mit destilliertem Wasser verdünnt, mit Essigsäure angesäuert und mit einer 10%igen Phosphorwolframsäurelösung in Überschuß versetzt. Der hierbei entstehende Proteinniederschlag reißt die Fette der Emulsion mit. Die Flüssigkeit wird auf einer Nutsche abgesaugt und mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen. Im opaleszenten Filtrate wird die Phosphorwolframsäure durch einen Barytüberschuß gefällt. Man filtriert und entfernt aus dem neuen Filtrate den Barytüberschuß durch Einleiten von Kohlensäure. Man filtriert und fällt die Chloride im barytfreien Filtrate durch Zusatz von frisch bereitetem Silberoxyd. Man filtriert und engt das Filtrat auf dem Wasserbade auf 25—50 *cm*³ ein. Nun bestimmt man den Glyzeringehalt eines aliquoten Teiles dieser Flüssigkeit nach dem etwas veränderten Jodidverfahren von *Zeisel* und *Fanto* (Bd. II. S. 216; Bd. III. S. 226).[1])

Zu S. 222: Apparate zur Ätherextraktion. Außer den Apparaten von *Slosse* und *Vandeweyer* einerseits, *Kumagawa* und *Suto* andrerseits kann man noch die durch *ten Doornkaat-Koolman*[2]) und durch *Alb. Maassen* empfohlenen anwenden.

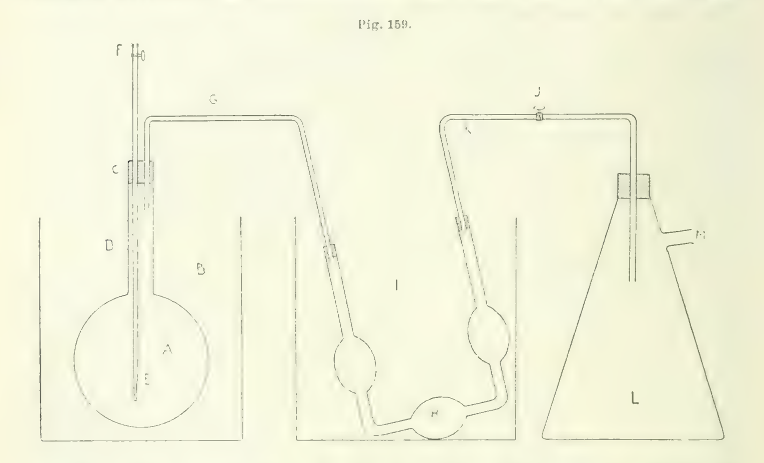
[1]) *L. Liebermann* und *S. Székely*, Eine neue Methode der Fettbestimmung in Futtermitteln, Fleisch, Kot etc. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 72. S. 360—366 (1898). — *St. v. Pesthy*, Beiträge zur Kenntnis der Fettverdauung. Biochem. Zeitschr. Bd. 34. S. 147—169 (1911).

[2]) *F. C. ten Doornkaat-Koolman*, Zwei neue Extraktionsapparate für Flüssigkeiten. Biochem. Zeitschr. Bd. 34. S. 481—484 (1911).

Zu S. 227: Anwendung der Biuretreaktion zur Prüfung des Verdauungsgrades der Proteine. Man kann den Grad der Verdauung der Proteine mittelst der Biuretreaktion annähernd ermitteln. Dazu setzt man nach *Abderhalden*[1]) zu 1 cm^3 der Verdauungsflüssigkeit 2 cm^3 $33^1/_3$ %iger Natronlauge. Diese alkalische Flüssigkeit wird tropfenweise vorsichtig mit einer 1%igen Kupfersulfatlösung versetzt bis zum Umschlage der auftretenden violett-roten Färbung in Blau. Die Anzahl verbrauchter Kubikzentimeter der Kupfersulfatlösung gibt eine relative Messung des Verdauungsgrades.

Zu S. 227: Isolierung der Abbauprodukte der Verdauung der Proteine: Zur quantitativen Messung proteolytischer Spaltungen mittelst der Formoltitrierung nach *Sörensen*. Man kann

Fig. 159.



mittelst dieses Verfahrens in der von den festen Stoffen (geronnene Proteine usw.) durch Filtration befreiten Verdauungsflüssigkeit den Ammoniakstickstoff, den Aminosäurenstickstoff, den eigentlichen Peptidstickstoff, den Amidstickstoff und den gesamten Peptidstickstoff nacheinander bestimmen.

1. Bestimmung des Ammoniakstickstoffes: Dazu bringt man in einen 1—2 *l* haltenden langhalsigen Kolben *A* aus Jenaer Glase ein bekanntes Volumen der Verdauungsflüssigkeit (40 cm^3 wenigstens), 100 cm^3 gesättigter NaCl-Lösung, 50 cm^3 Alkohol, eine genügende Menge destillierten Wassers, um 250 cm^3 Gesamtflüssigkeit zu erreichen, und schließlich 50 cm^3 gesättigter Natriumkarbonatlösung. Wie die Fig. 159 es zeigt, befindet sich

[1]) *E. Abderhalden* und *F. W. Strauch*, Weitere Studien über die Wirkung der Fermente des Magensaftes. II. Mitteilung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 71. S. 315 bis 338 (1911).

dieser Kolben in einem Wasserbade *B*. Ein doppelt durchbohrter Pfropfen *C* schließt diesen Kolben. Durch eine dieser Öffnungen dringt bis zum Boden des Kolbens eine Glasröhre *D* mit fein zugespitztem unteren Ende *E*. Auf ihrer anderen Seite steht die Röhre *D* mittelst einer mit einer Druckklemme *F* versehenen kleinen Kautschukröhre mit der äußeren Luft in Verbindung. Durch die andere Öffnung des Pfropfens dringt eine gebogene Glasröhre *G*, welche ganz oben im Kolben *A* endigt und diesen mit einer Peligotröhre *H* in Verbindung bringt. Diese Peligotröhre hat eine Höhe von 25—30 *cm* und einen Inhalt von ungefähr 450 *cm*³. Sie enthält 10 bis 20 *cm*³ dezinormaler Schwefelsäure. Sie befindet sich schräg in einem mit Eis oder Kältemischung gefüllten Behälter *I*, auf solche Weise, daß die dem Kolben nächstliegende Hälfte der Peligotröhre niedriger liegt als die andere Hälfte, welche mittelst einer mit einem zur Austreibung der Luft dienenden Hahne *J* versehenen gebogenen Glasröhre *K* mit einem Kolben *L* in Verbindung steht, welcher selbst durch die seitliche Öffnung *M* mit einer Wasserstrahlpumpe und einem Manometer verbunden wird.

Dieser Apparat wird einem Vakuum von 20 *mm* Hg unterworfen. Während mehreren Stunden läßt man einen geringen Luftstrom den Apparat durchlaufen. Man erwärmt das Wasserbad 3 Stunden auf 25 bis 30° C, um dann seine Temperatur auf 36—37° C zu erhöhen. 6—7 Stunden nach Anfang des Siedens befindet sich die gesamte Ammoniakmenge der Verdauungsflüssigkeit in der Peligotröhre. Dann läßt man mittelst des Hahnes *J* sehr langsam Luft in den Apparat eindringen.

Auf gewöhnlich titrimetrischem Wege wird der Ammoniakstickstoff der Peligotröhre bestimmt, von welchem man den vorher bestehenden Ammoniakstickstoff abzieht. Dieser wird in einem Kontrollversuche festgestellt, wo die Verdauungsflüssigkeit durch die gleiche Menge destillierten Wassers ersetzt wird.

2. Bestimmung des Aminosäurenstickstoffes: Mittelst zur Kohlensäurebefreiung vorher zum Sieden gekochten destillierten Wassers wird der im Kolben *A* befindliche Rückstand in einen geeichten Kolben von 100 *cm*³ Inhalt gebracht. Nach tüchtigem Umschütteln läßt man den etwaigen Niederschlag sich absetzen. Nun filtriert man die Flüssigkeit, welche man in 2 gleiche Teile trennt. Die erste Hälfte des Filtrates dient zur Feststellung der Menge dezinormaler Salzsäure, welche zur Neutralisierung gegenüber dem nach der Vorschrift von *Henriques* und *Sörensen* bereiteten sehr empfindlichen Lackmuspapiere erforderlich ist.

Zur Darstellung des Lackmuspapieres nach *Henriques* und *Sörensen* werden 50 *cg* Azolitmin fein gepulvert. Man löst sie in eine Mischung von 200 *cm*³ Wasser und 22·5 *cm*³ dezinormaler Natronlauge. Man filtriert. Zum Filtrate fügt man 50 *cm*³ Alkohol. Diese Lösung wird in einen geeigneten Behälter gegossen, in welchen man Streifen fast aschenfreien Filtrierpapieres rasch taucht. Man läßt diese Papierstreifen 1 Stunde ungefähr trocknen. Dieses Papier muß eine schwach saure Reaktion geben, wenn man es in chemisch rein destilliertes Wasser taucht, welches 3 Teile

sekundären Natriumphosphates für 7 Teile primären Natriumphosphates enthält. In einer Lösung gleicher Teile beider Phosphate muß das Lackmuspapier eine neutrale Reaktion anzeigen. In einer Lösung von 7 Teilen sekundären und 3 Teilen primären Natriumphosphates muß das Lackmuspapier eine schwach alkalische Reaktion anzeigen. Falls die Lackmuspapierstreifen sich nicht auf diese Weise verhalten, so muß man der wässerigen Azolitminlösung eine mehr oder weniger als 22·5 *cm*³ betragende Menge dezinormaler Natronlauge zufügen, damit man den durch *Henriques* und *Sörensen* gewählten Neutralisationspunkt erhält, welcher dem H-Ionen-Exponent $P^H = 6{\cdot}81$ entspricht.

Zur Formoltitrierung fügt man zur zweiten Hälfte des Filtrates die zur Neutralisation gegenüber dem *Henriques-Sörensen*schen Lackmuspapiere nötige Menge dezinormaler Salzsäure und nachher 10 *cm*³ einer frisch bereiteten *Sörensen*schen Phenolphtalein-Formolmischung (Bd. III, S. 227 u. 228). Dann stellt man die Menge des Aminosäurenstickstoffes fest.

Die Flüssigkeit wird mit $^1/_5$-normaler Natronlauge versetzt bis zur tiefroten Farbe. Nun fügt man rasch noch 3—5 *cm*³ $^1/_5$-normaler Natronlauge hinzu und titriert darauf mit $^1/_5$-normaler Salzsäure zurück bis zum Augenblicke, wo man eine etwas schwächere Färbung als die der Kontrolllösung erreicht, d. h. die schwach rote Färbung, welche nach *Sörensen* dem zweiten Stadium des Phenolphtaleinfarbenumschlages entspricht. Durch Zusatz eines Tropfens $^1/_5$-normaler Natronlauge wird die untersuchte Verdauungsflüssigkeit zur tiefroten Farbe der Kontrollflüssigkeit (drittes Stadium des Phenolphtaleinfarbenumschlages nach *Sörensen*) zurückgebracht. Von der so verbrauchten Anzahl von Kubikzentimeter $^1/_5$-normaler Natronlauge werden die Anzahl bei der Zurücktitrierung benutzten Kubikzentimeter $^1/_5$-normaler Salzsäure sowie die Anzahl von beim Kontrollversuche angewandten Kubikzentimeter $^1/_5$-normaler Natronlauge abgezogen. Die alsdann verbleibende Zahl wird mit 2·8 vervielfacht, wodurch man den Aminosäurenstickstoff in Milligramm erzielt.

Falls sich gelöste Proteine in der Verdauungsflüssigkeit vorfinden, kann ein Teil des erhaltenen Aminosäurenstickstoffes von den Proteinen herrühren. Nach *Obermayer* und *Willheim* sind nämlich solche formoltitrierbar. Ihre Reaktion verschiebt sich nach Zusatz von neutralem Formaldehyd nach der sauren Seite hin. Der Grad dieser Aziditätszunahme hängt von der Zahl der in den Proteinen vorhandenen freien Aminogruppen ab.

Obermayer und *Willheim* nennen Aminoindex einer Verdauungslösung die beim Dividieren des Gesamtstickstoffes nach *Kjeldahl* durch den formoltitrierbaren Stickstoff erhaltene Zahl. Je mehr sich diese Zahl an 1 nähert, je vorgeschrittener ist der Verdauungsvorgang.

3. Bestimmung des Peptidstickstoffes: Man versetzt ein bekanntes Volumen der Verdauungsflüssigkeit mit einer solchen Menge konzentrierter Salzsäure, daß die Gesamtflüssigkeit einer $^1/_5$-normalen Salzsäure entspricht. Diese Flüssigkeit wird entweder $1^1/_2$ Stunde im Autoklaven auf 150° C oder 6 Stunden wenigstens im Ölbade auf 140—150° C er-

wärmt. Nach Erkalten der schwarzbraunen Flüssigkeit wird sie von der Salzsäure befreit, entweder durch Neutralisation mittelst Natronlauge oder durch vorsichtiges Abdampfen auf dem Wasserbade und nachherige Hinzufügung von zum Sieden gekochten destillierten Wassers, um 20 cm^3 Gesamtvolumen zu erreichen. Man filtriert vom etwaigen Niederschlage ab und entfärbt das dunkelbraune Filtrat mit Silbernitrat bei Salzsäureanwesenheit nach *Sörensen* und *Jessen-Hansen* auf die früher beschriebene Weise (Bd. III. S. 229). Das so erhaltene klare Filtrat dient zur Bestimmung auf die oben angegebene Art des Ammoniakstickstoffes und darauf des Aminosäurenstickstoffes.

Zieht man vom Aminosäurenstickstoffe nach Behandlung der Verdauungsflüssigkeit mit Salzsäure den Aminostickstoff derselben Flüssigkeit vor dieser Behandlung ab, so erhält man den eigentlichen Peptidstickstoff. Der Unterschied zwischen dem Ammoniakstickstoffe der Verdauungsflüssigkeit nach und vor Behandlung mit Salzsäure gibt den Amidstickstoff, welcher eigentlich nur eine besondere Art von Peptidstickstoff darstellt. Gleichzeitig mit dem Abbau der Proteine erfolgt nämlich nach *Henriques* und *Gjaldbäk* eine sekundäre Spaltung der gebildeten Aminosäuren, bei welcher nun Ammoniak abgespalten wird. Durch Zusatz des Amidstickstoffes zum eigentlichen Peptidstickstoffe erhält man den gesamten Peptidstickstoff. Die so erzielte Zahl ist indes nach *Henriques* und *Gjaldbäk* nicht stets völlig richtig, da der Zeitpunkt des vollständigen Proteinenabbaues sich nicht immer mit absoluter Sicherheit angeben läßt.

Falls die Verdauungsflüssigkeit Hippursäure enthält, so muß man sie mehrmals mit Essigester schütteln, um sie davon zu befreien ehe man den Peptidstickstoff der Verdauungsflüssigkeit bestimmt.

Unter dem Namen von Peptidstickstoff versteht man den Stickstoff, welcher als Peptidgruppe — CO.NH — noch vorhanden ist. Das Verhältnis zwischen diesem Peptidstickstoffe und dem bei der hydrolytischen Spaltung der Peptidradikale in Carboxylgruppen und Aminogruppen freigewordenen Aminosäurenstickstoffe erlaubt eine annähernde Schätzung des Verdauungsgrades der Proteine.

Henriques und *Sörensen* führen die Formoltitrierung in Stadien in folgender Weise aus: Man neutralisiert die Verdauungsflüssigkeit gegen Lackmuspapier und fügt nachher Phenolphtalein und $^1/_5$ normale Natronlauge hinzu bis zur schwach roten Farbe (1-tes Stadium). Darauf wird wieder $^1/_5$ normale Natronlauge zugesetzt bis zur stark roten Farbe (2-tes Stadium). Nun wird neutrale Formollösung hinzugefügt, wodurch die rote Farbe verschwindet; es wird wieder $^1/_5$ normale Natronlauge zugesetzt bis zur schwach roten Farbe (3-tes Stadium) und nachher bis zur stark roten Farbe (4-tes Stadium). In allen Fällen, wo sich bei der Hydrolyse der Proteine eine große Menge freier Aminosäuren bildet, ist nach *Henriques* und *Gjaldbäk* das Verhältnis zwischen dem 1-ten und dem 4-ten Stadium weit. Wenn sich aber bei der Hydrolyse statt freier Aminosäuren hauptsächlich Polypeptide bilden, ist dieses Verhältnis hingegen eng.

Die Salze schwacher Säuren, wie z. B. essigsaures Natron, zeigen eine lange Strecke zwischen lackmusneutral und phenolphtaleinneutral (zu schwach roter Farbe); das erste Stadium ist dann groß, das zweite hingegen ganz kurz, indem die Lösung mit einem Tropfen $^1/_5$ normaler Natronlauge von schwach roter zu stark roter Farbe geht. Hingegen bei Flüssigkeiten, welche Salze starker Säuren oder eine schwache Base, wie Ammoniak, enthalten, ist das Stadium von schwach zu stark roter Farbe mit Phenolphtalein (ohne Formol) sehr lang im Vergleich zum ersten Stadium. Salze schwacher Säuren mit schwachen Basen oder kompliziert gebaute Stoffe, welche sowohl den Charakter schwacher Säuren als schwacher Basen besitzen, zeigen bei der Titrierung vor dem Formolzusatze sowohl ein langes erstes Stadium als ein langes zweites Stadium.[1])

Zur Bestimmung des aliphatischen Aminostickstoffes und des Peptidstickstoffes nach dem *Van Slyke*schen Verfahren. Die Anwendung des *Van Slyke*schen Verfahrens zur Feststellung des aliphatischen Aminostickstoffes und des Peptidstickstoffes in den Verdauungsflüssigkeiten wurde schon früher besprochen (Bd. V, S. 1004—1007). Die *Van Slyke*sche Methode bietet gewisse Vorteile gegenüber der Formoltitrierung, bei welcher die Wegtreibung des Ammoniak ziemlich viel Zeit in Anspruch nimmt und bei welcher die vorherige Neutralisation gegenüber Lackmuspapier nicht immer leicht genau ausführbar ist. Außerdem läßt sich der Peptidstickstoff nach Wegtreibung der Salzsäure durch Verdampfen oder durch Natronlauge ohne vorherige Entfärbung unmittelbar im *Van Slyke*schen Verfahren bestimmen. Andrerseits bedarf es bei der *Van Slyk*eschen Methode manchmal einer mehr als 5 Minuten betragenden Einwirkung der salpetrigen Säure, um den gesamten aliphatischen Aminostickstoff der Verdauungsflüssigkeit zu erhalten. Dies ist nach Spaltung der Peptidgruppen durch Behandlung mit Salzsäure besonders der Fall. Deshalb empfiehlt es sich stets, sowohl vor wie nach der Behandlung der Verdauungsflüssigkeit mit Salzsäure, den aliphatischen Aminostickstoff

[1]) *S. P. L. Sörensen*, Etudes enzymatiques II. Compt. rend. des trav. du lab. de Carlsberg. T. 8. fasc. 1 (1909). — Derselbe, Enzymstudien II und III. Biochem. Zeitschr. Bd. 21. S. 131—304 (1909); Bd. 23. S. 352—356 (1909). — Derselbe, Sulla determinazione e sul significato della concentrazione degli idrossilioni nei processi enzimatici. Pathologica. Vol. 2. p. 79—82 (1910). — *H. Jessen-Hansen,* Sulla determinazione quantitativa dell'azoto titolabile col formolo. Pathologica. Vol. 2. p. 82—87 (1910). — *V. Henriques* und *S. P. L. Sörensen,* Über die quantitative Bestimmung der Aminosäuren, Polypeptide und der Hippursäure im Harne durch Formoltitration. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 63. S. 27—40 (1909). — *V. Henriques* und *I. K. Gjaldbäk,* Über quantitative Bestimmung der im Proteine oder in dessen Abbauprodukten vorhandenen Peptidbindungen. Ibid. Bd. 67. S. 8—27 (1910). — Dieselben, Untersuchungen über die Plasteinbildung. Ibid. Bd. 71. S. 485—517 (1911). — Dieselben, Über hydrolytische Spaltungen von Proteinen durch Einwirkung von Pepsin, Trypsin, Säuren und Alkalien. Ibid. Bd. 75. S. 363—409 (1911). — *E. Zunz,* Recherches sur l'azote titrable dans le contenu stomacal par la méthode de *Sörensen* au formol. Int. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen. Bd. 2. S. 372—412 (1911). — *Fr. Obermayer* und *R. Willheim,* Über formoltitrimetrische Untersuchungen an Eiweißkörpern. Biochem. Zeitschr. Bd. 38. S. 331—343 (1912).

nach 5 bis 6 und nach 8 bis 10 Minuten dauernder Einwirkung der salpetrigen Säure zu ermitteln.[1])

Die Verdauungsflüssigkeiten (besonders der Mageninhalt) enthalten oft nur sehr wenig aliphatischen Aminostickstoff. Deshalb ist es nötig, die 10 cm^3 fassende Bürette *B* (s. Fig. 231, Bd. V. S. 998) in $^1/_{50}$ cm^3 einzuteilen und den oberen Teil der Gasbürette *F* in $^1/_{20}$ *cm.*

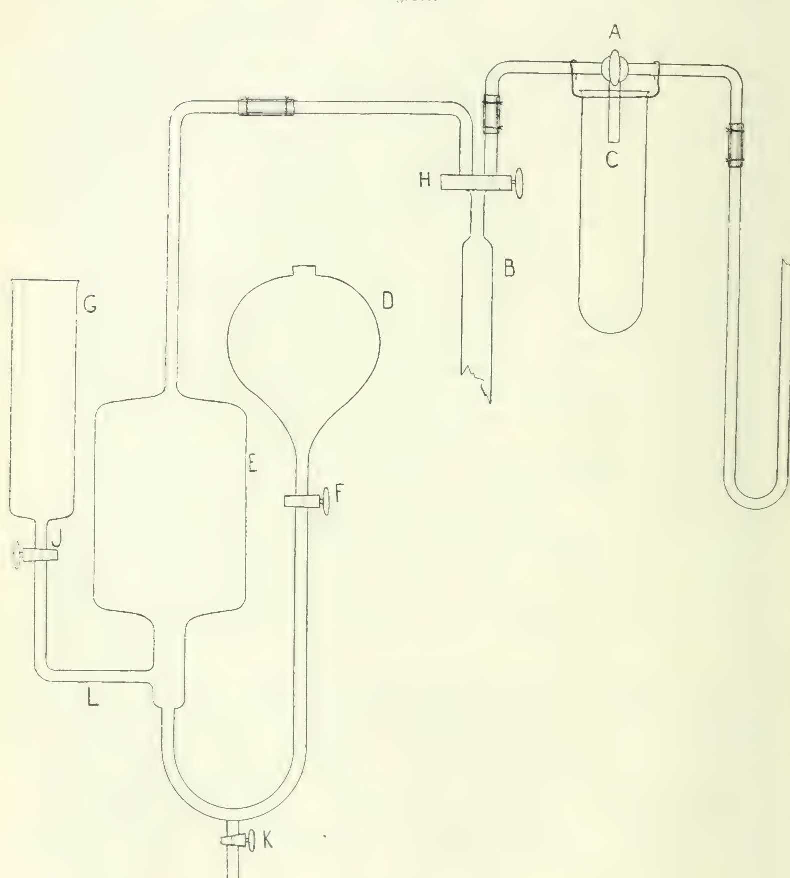
Klein[2]) hat den *Van Slyke*schen Apparat etwas verändert. Fig. 160 veranschaulicht diese Veränderungen. Zwischen der *Hempel*schen Absorptionspipette und der Gasbürette *B* befindet sich ein Kapillardreiweghahn *A*. Man führt zuerst alkalische Permanganatlösung von der Absorptionspipette bis zum Hahne *A*, so daß letzterer mit dieser Lösung gefüllt wird. Nun wird der Hahn *A* in solche Stellung gebracht, daß die Bürette *B* mit der Luft in *C* in Verbindung steht. Man gießt 28 cm^3 der Natriumnitritlösung in den Behälter *D* und bringt sie darauf in den Raum *E* durch Senkung der Nivellierbirne der Bürette *B*, so daß etwas Flüssigkeit über dem Hahne *F* bleibt. Man treibt die Luft von der mit verdünnter Schwefelsäure gefüllten Bürette *B* durch den Hahn *A* ab. Man läßt Amylalkohol von *G* in *E* eintreten und gießt nachher eine bekannte Menge der untersuchten Verdauungsflüssigkeit in *G*. Dann gießt man 7 *cm* Eisessig in *D* und bringt sie nachher in den Raum *E* durch Senkung der Nivellierbirne der Bürette *B*, indem man darauf acht gibt, daß etwas Eisessig über dem Hahne *F* bleibt. Bei Verschluß der Hähne *J*, *F* und *K* und Verbindung von *E* mit der Gasbürette *B* mittelst des Hahnes *H* wird rasch die in *E* befindliche Luft durch das entwickelte Stickoxyd weggetrieben. Sobald sich 40 bis 50 cm^3 Gas in der Bürette *B* befinden, schließt man den Hahn *H* und öffnet den Hahn *F*. Es entwickelt sich rasch ein genügendes Gasvolumen in *E*. Während dieser Zeit wird die Luft vollständig von der Bürette *B* weggetrieben: die verdünnte Schwefelsäure muß die Glaskapillare zwischen *B* und *A* füllen und einige Tropfen dieser Säure müssen sogar durch *A* und *C* in die Kontrollröhre fließen. Nun schließt man den Hahn *H* und bringt den Hahn *A* in solche Stellung, daß die Absorptionspipette mit der Bürette *B* in Verbindung steht. Der Hahn *F* wird geschlossen. Die untersuchte Verdauungsflüssigkeit wird von *G* in *E* gebracht auf solche Weise, daß einige Tropfen davon über dem Hahne *J* verbleiben. Man schließt den Hahn *J*, wäscht *G* mit etwas destilliertem Wasser und läßt das Waschwasser in *E* eintreten. Diese Prozedur wird 2- bis 3mal wiederholt. Nach einer 5 Minuten dauernden Einwirkung der salpetrigen Säure auf die Verdauungsflüssigkeit läßt man Flüssigkeit von *D* in *E* fließen, so lange bis das gesamte Gasvolumen von *E* in die Gas-

[1]) *E. Abderhalden* und *Fr. Kramm*, Beitrag zur Kenntnis des Abbaus der Proteine im Darmkanal. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **77**. S. 425—434 (1912). — *E. Zunz*, Recherches sur la digestion des protéines du pain et de la viande. Bull. d. l'Acad. roy. de médec. de Belgique, 4. série, T. **21**. p. 292—318 (1912).

[2]) *David Klein*, An improved apparatus for the determination of aminogroups. Journ. of biol. Chem. Vol. **10**. P. 287—289 (1911).

bürette *B* gebracht wird und sogar etwas Flüssigkeit in *B* eindringt. Dann wird das Gas von *B* in die Absorptionspipette geführt und wie im eigentlichen *van Slyke*schen Verfahren weiter gearbeitet.

Fig. 160.



Zur Reinigung des Apparates wird Wasser von *D* und G in *E* gebracht, welches man durch den Hahn *K* ablaufen läßt.

Zur Untersuchung der Stickstoffverteilung zwischen den verschiedenen Gruppen von Proteosen und anderen Spaltproduk-

ten der Proteine. (Bd. III. S. 230.) Man muß sowohl die ungelösten und geronnenen Proteine als die nach Filtration derselben im Filtrate *a* (S. 231) durch Sieden gerinnbaren Proteine mit destilliertem Wasser bis zum Verschwinden der Biuretreaktion auswaschen. Falls die Filtration langsam erfolgt, so muß man etwas Thymol zum Waschwasser fügen. Um keine zu großen Flüssigkeitsvolumina zu erhalten, vereinigt man die Waschwasser mit dem entsprechenden Filtrat *a* oder *b* (S. 231) und verdampft die Gesamtflüssigkeit vorsichtig im Vakuum bei einer 30 bis 35° C nicht übersteigenden Temperatur bis zu einem für alle Analysen und Manipulationen genügenden Volumen.

Die Feststellung der Stickstoffverteilung zwischen den vier *Pick*schen Proteosenfraktionen scheint keine sehr große Bedeutung bei der Untersuchung der Verdauungsprodukte der Proteine zu besitzen.

Zurzeit empfiehlt es sich am meisten, das *van Slyke*sche Verfahren mit der Bestimmung des Azidalbuminstickstoffes, des Proteosenstickstoffes, des Stickstoffes der durch Phosphorwolframsäure im proteosenfreien Filtrate fällbaren Stoffe und des Stickstoffes der in diesem Filtrate durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stoffe zu verbinden. Bei dieser Versuchsanordnung bestimmt man nacheinander: 1. den Stickstoff der auf der schon früher beschriebenen Weise (Bd. III. S. 231) in Schwefelsäure zur Lösung gebrachten ungelösten und geronnenen Proteine;

2. den gesamten Stickstoff des durch Filtration von den ungelösten und geronnenen Proteinen befreiten Filtrates *a* (gesamter gelöster Stickstoff) und den aliphatischen Aminostickstoff dieses Filtrates vor und nach $1^1/_2$stündigem Erwärmen auf 150° im Autoklaven mit Salzsäure;

3. den Stickstoff des von den gelösten, aber noch gerinnbaren Proteinen befreiten Filtrates *b*. Durch Abziehen des Stickstoffgehaltes des Filtrates *b* (Bd. III. S. 231) vom Stickstoffgehalte des Filtrates *a* erhält man den Stickstoff der gelösten, aber noch gerinnbaren Proteine;

4. den Stickstoff des von den Proteinen und vom Azidalbumin befreiten Filtrates *c*. Durch Abziehen des Stickstoffgehaltes des Filtrates *c* (Bd. III. S. 231) vom Stickstoffgehalte des Filtrates *b* erhält man den Azidalbuminstickstoff;

5. den Stickstoff des von den Proteinen, vom Azidalbumin und von den Proteosen befreiten Filtrates *g* (Bd. III. S. 233). Zur Fällung der Gesamtproteosen wird das neutrale Filtrat *c* durch Zusatz von 2 cm^3 verdünnter Schwefelsäure (1 Volumen konzentrierter Säure auf 4 Volumina Wasser) auf je 100 cm^3 Flüssigkeit angesäuert. Dann sättigt man die Flüssigkeit mit reinstem, kristallisiertem, feingepulvertem Zinksulfat nach den früher beschriebenen Vorschriften (Bd. III. S. 233). Der Unterschied zwischen dem Stickstoffgehalte des mit Zinksulfat gesättigten Filtrates *g* und demjenigen des Filtrates *c* ergibt den Stickstoffgehalt der gesamten Proteosen;

6. den Stickstoff des von den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffen befreiten Filtrates *h* (Bd. III. S. 235). Diese Zahl entspricht also

dem Stickstoffe der durch Phosphorwolframsäure im proteosenfreien Filtrate *g* nicht fällbaren Stoffe (Polypeptide und Aminosäuren). Durch Abziehen des Stickstoffgehaltes des Filtrates *h* vom Stickstoffgehalte des Filtrates *g* erhält man den Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure im proteosenfreien Filtrate *g* fällbaren Stoffe (Peptone, Polypeptide, Aminosäuren);

7. den aliphatischen Aminostickstoff der im proteosenfreien Filtrate *G* durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffe vor und nach Behandlung mit Salzsäure. Die im proteosenfreien Filtrate *g* durch Phosphorwolframsäure auf die früher beschriebene Weise (Bd. III. S. 235) gefällten Stoffe werden auf einem harten Filter gesammelt, von der anhaftenden Flüssigkeit möglichst befreit und in nicht zu konzentrierter Natronlauge gelöst. Man kann auch die durch Phosphorwolframsäure gefällten Stoffe durch Zentrifugieren von der phosphorwolframsäurehaltigen Lösung trennen. Nun bestimmt man nach *Kjeldahl* den Gesamtstickstoff und nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffe vor und nach $1^1/_2$stündigem Erhitzen auf 150° C mit Salzsäure im Autoklaven;

8. den aliphatischen Aminostickstoff der im Filtrate *h* befindlichen durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stoffe vor und nach Behandlung mit Salzsäure. Das Filtrat *h* wird zuerst im Vakuum bei einer 33 bis 35° C nicht übersteigenden Temperatur auf ein geringes Volumen gebracht und nachher mit Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. Man ermittelt nach *Kjeldahl* den Gesamtstickstoff und nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff dieser Lösung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffe vor und nach $1^1/_2$stündigem Erhitzen auf 150° C mit Salzsäure im Autoklaven.

Die soeben angegebene Versuchsanordnung ergibt ein Bild der Stickstoffverteilung zwischen den Hauptgruppen von Spaltprodukten der Proteine in einer Verdauungsflüssigkeit sowie des nach dem *van Slyke*schen Verfahren gemessenen Spaltungsgrades der Proteine, ihrer durch Zinksulfat nicht fällbaren, wohl aber durch Phosphorwolframsäure fällbaren Spaltprodukte und ihrer weder durch Zinksulfat noch durch Phosphorwolframsäure fällbaren Spaltprodukte.

Man kann natürlich auch den Azidalbumin- und den Proteosenniederschlag wieder in Lösung bringen und ihren Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* einerseits, ihren aliphatischen Aminostickstoff vor und nach $1^1/_2$stündigem Erhitzen auf 150° C mit Salzsäure im Autoklaven nach *van Slyke* andrerseits feststellen. Der Azidalbuminniederschlag ist aber meistens viel zu gering dazu. Außerdem enthält Azidalbumin äußerst wenig freien aliphatischen Aminostickstoff (manchmal nur 1·1%). Der Proteosenniederschlag enthält zwar mehr freien aliphatischen Aminostickstoff als das Azidalbumin, nämlich im Durchschnitte ungefähr 6—7% für die erste Proteosengruppe (Heteroalbumose und Protoalbumose), 10—12% für die anderen Proteosenfraktionen. Seine gesonderte Untersuchung nach dem

*van Slyke*schen Verfahren ist jedoch meistens nicht erforderlich, denn aus den bei der angegebenen Versuchsanordnung erhaltenen analytischen Daten läßt sich die Verteilung des freien aliphatischen Aminostickstoffes zwischen Azidalbumin und Proteosen, durch Phosphorwolframsäure fällbare Stoffe (Peptone, Polypeptide, Aminosäuren) und durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Polypeptide und Aminosäuren annähernd feststellen. Das Verhältnis zwischen freiem aliphatischen Aminostickstoff und Peptidstickstoff ist für beide letzte Gruppen von Spaltprodukten ziemlich erheblichen Schwankungen unterworfen, während es für die Proteosen hingegen keine wesentlichen Veränderungen von einem Falle zum anderen zu zeigen scheint.

Was die gelösten gerinnbaren Proteine betrifft, so ist meistens ihre gesamte Menge äußerst gering und ihr Gehalt an freiem aliphatischen Aminostickstoff ist stets sehr niedrig.

Zum leichteren Verständnisse der besprochenen Versuchsanordnung dient folgende Übersicht. Man bestimmt:

1. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *A* der ungelösten und geronnenen Proteine,

2. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *B* des von den ungelösten und geronnenen Proteinen befreiten Filtrates *a*,

3. nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff *C* des Filtrates *a*,

4. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *D* des durch Salzsäure behandelten Filtrates *a*,

5. nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff *E* des durch Salzsäure behandelten Filtrates *a*,

6. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *F* des vollständig proteinfreien Filtrates *b*,

7. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *G* des von den Proteinen und dem Azidalbumin befreiten Filtrates *c*,

8. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *H* des von den Proteinen, dem Azidalbumin und den Proteosen befreiten Filtrates *g*,

9. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *I* des von den Proteinen, dem Azidalbumin, den Proteosen und den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffen (Peptone, Polypeptide, Aminosäuren) befreiten Filtrates *h*,

10. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *J* der alkalischen Lösung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren,

11. nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff *K* dieser Lösung,

12. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *L* der durch Salzsäure behandelten Lösung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren,

13. nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff *M* der durch Salzsäure behandelten Lösung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren,

14. nach *Kjeldahl* den Stickstoff *N* der alkalischen Lösung der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide und Aminosäuren,

15. nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff O dieser Lössung.

16. nach *Kjeldahl* den Stickstoff P der durch Salzsäure behandelten Lösung der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide und Aminosäuren,

17. nach *van Slyke* den aliphatischen Aminostickstoff Q der durch Salzsäure behandelten Lösung der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide und Aminosäuren.

Mittelst dieser 17 analytischen Daten, von welchen die 3., 5., 6., 7., 8., 9., 11., 13., 15. und 17. die dem gesamten gelösten Stickstoff B des Filtrates a entsprechenden Zahlen vorher zurückgebracht werden, berechnet man:

1. den Gesamtstickstoff $A + B = R$.
2. den Stickstoff der ungelösten und geronnenen Proteine A,
3. den Stickstoff der gelösten noch gerinnbaren Proteine $B - F = S$,
4. den Stickstoff der gesamten Proteine $A + S = T$,
5. den gesamten gelösten Stickstoff B,
6. den gesamten ungerinnbaren Stickstoff F,
7. den Azidalbuminstickstoff $F - G = U$,
8. den Proteosenstickstoff $G - H = V$,
9. den Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren $H - I = W$,
10. den Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide und Aminosäuren $I - J = X$,
11. den gesamten gelösten aliphatischen Aminostickstoff C,
12. den aliphatischen Aminostickstoff der gelösten gerinnbaren Proteine, des Azidalbumins und der Proteosen $C - (K + O) = Y$,
13. den aliphatischen Aminostickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren K,
14. den aliphatischen Aminostickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren O,
15. den gesamten gelösten Peptidstickstoff E,
16. den Peptidstickstoff der gelösten gerinnbaren Proteine, des Azidalbumins und der Proteosen $E - (M + Q) = Z$,
17. den Peptidstickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren M,
18. den Peptidstickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide und Aminosäuren Q,
19. den Prozentsatz an aliphatischem Aminostickstoffe des gesamten gelösten Stickstoffes $\frac{100\,C}{B} = AA$,
20. den Prozentsatz an aliphatischem Aminostickstoffe der gelösten gerinnbaren Proteine, des Azidalbumins und der Proteosen $\frac{100\,Y}{B - H}$ oder $\frac{100\,Y}{S + U + V} = BB$.

21. den Prozentsatz an aliphatischem Aminostickstoffe der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren $\frac{100\,K}{W} = CC$,

22. den Prozentsatz an aliphatischem Aminostickstoffe der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide und Aminosäuren $\frac{100\,O}{X} = DD$,

23. den Prozentsatz an Peptidstickstoff des gesamten gelösten Stickstoffes $\frac{100\,E}{B} = EE$,

24. den Prozentsatz an Peptidstickstoff der gelösten gerinnbaren Proteine, des Azidalbumins und der Proteosen $\frac{100\,Z}{B-H}$ oder $\frac{100\,Z}{S+U+V} = FF$,

25. den Prozentsatz an Peptidstickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptone, Polypeptide und Aminosäuren $\frac{100\,M}{W} = GG$,

26. den Prozentsatz an Peptidstickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide und Aminosäuren $\frac{100\,Q}{X} = HH$,

27. den aus dem Verhältnisse zwischen freien aliphatischen Aminostoffe und Peptidstickstoffe sich ergebenden Spaltungsgrad der Proteine $\frac{100\,C}{E}$ oder $\frac{100\,AA}{EE} = II$,

28. das Verhältnis zwischen freiem aliphatischen Aminostickstoffe und Peptidstickstoffe in den gelösten gerinnbaren Proteinen, dem Azidalbumin und den Proteosen $\frac{100\,Y}{Z}$ oder $\frac{100\,BB}{FF} = JJ$,

29. das Verhältnis zwischen freiem aliphatischen Aminostickstoffe und Peptidstickstoffe in den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Peptonen, Polypeptiden und Aminosäuren $\frac{100\,K}{M}$ oder $\frac{100\,CC}{GG} = KK$,

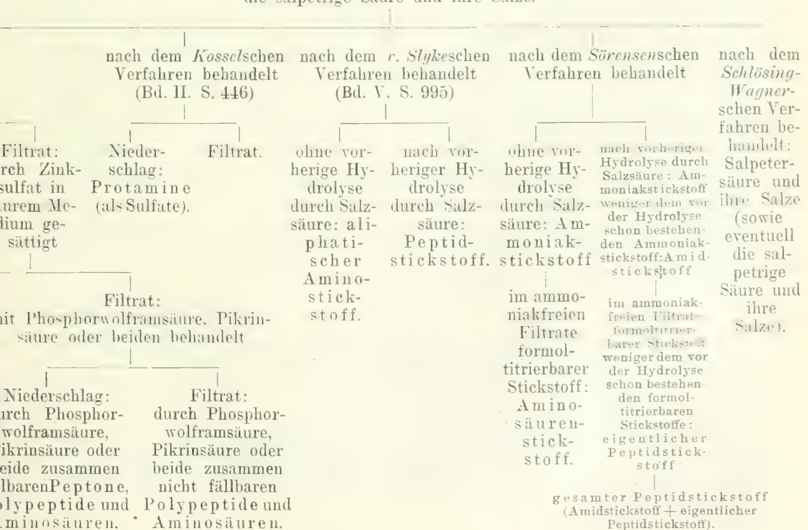
30. das Verhältnis zwischen freiem aliphatischen Aminostickstoffe und Peptidstickstoffe in den durch Phosphorwolframsäure nicht gefällten Polypeptiden und Aminosäuren $\frac{100\,O}{Q}$ oder $\frac{100\,DD}{HH} = LL$.

Man kann die so erhaltenen Zahlen A, S, T, B, F, U, V, W, X, C, Y, K, O, E, Z, M und Q in Prozenten des Gesamtstickstoffes berechnen. Die Zahlen S, F, U, V, W, X, C, Y, K, O, E, Z, M und Q können in Prozenten des gelösten Stickstoffes berechnet werden. Die Zahlen U, V, W, X, K, O, M und Q, sowie, falls man die etwaige Menge gelöster gerinnbarer Proteine außer acht läßt, außerdem die Zahlen C, Y, E und Z können in Prozenten des ungerinnbaren Stickstoffes berechnet werden.

Nährstoff (Gesamtstickstoff): mit kaltem Wasser behandelt

- Rückstand: mit auf 30—40° C erwärmtem Wasser behandelt
  - Rückstand: mit siedendem Wasser behandelt
    - Rückstand: geronnene Proteine (und außerdem gewisse Albuminoide, Hämatin, die stickstoffhaltigen Kohlehydrate der Chitingruppe, gewisse Alkaloide; manchmal ein Teil der Muzine, der Mukoide, der Nukleoproteide, der Nukleine, der Nukleinsäuren, der Purine und der Pyrimidinbasen).
    - Filtrat: kollagene Stoffe (u. außerdem Kreatin, Kreatinin, Inosin, Neosin, Karnin; ein Teil der Muzine, der Mukoide, der Nukleoproteide, der Nukleine, der Nukleinsäuren, der Purine, der Pyrimidinbasen, der Glykoside und der Alkaloide).
  - Filtrat: Glutin oder Leim (und außerdem ein Teil der Muzine, der Nukleoproteide, der Nukleine, der Nukleinsäuren, der Purine, der Pyrimidinbasen, der Glykoside u. der Alkaloide).
- Filtrat: neutralisiert und nachher mit Essigsäure tropfenweise versetzt so lange, als ein Niederschlag entsteht
  - Niederschlag: Muzine, Nukleoproteide, Nukleine (und außerdem gewisse Phosphoproteide u. gewisse Nukleinsäuren).
  - Filtrat: zum Sieden erwärmt
    - Niederschlag: gelöste gerinnbare Proteine (und außerdem manchmal ein Teil der Nukleoproteide u. der Nukleine).
    - Filtrat: neutralisiert, zum Sieden erwärmt und nachher mit verdünnter Salzsäure behandelt
      - Niederschlag: Histone.
      - Filtrat: dialysiert
        - Niederschlag: durch Hitze ungerinnbare oder schwer gerinnbare Proteine (pflanzliche Globuline).
        - neutralisiert
          - Niederschlag: Azidalbumin
          - Niederschlag: Proteosen (und außerdem wahrscheinlich alle Protamine, ein Teil der Mukoide, manchmal ein Teil des Azidalbumins, Ammoniak, Spuren von Leim, von Muzinen u. von echten Proteinen).

Filtrat:
zidalbumin, Proteosen, Polypeptide, Aminosäuren, Protamine, Ammoniak, Harnstoff, Guanidin, ein ringer Teil der Purine und der Pyrimidinbasen, gewisse Fleischbasen, Cholin und ähnliche Stoffe, Glykosamin, die meisten stickstoffhaltigen Glykoside, gewisse Alkaloide; eventuell die Salpetersäure, die salpetrige Säure und ihre Salze.



Bei den Versuchen in vivo muß die oben beschriebene Versuchsanordnung manchmal gewisse Änderungen erfahren. Die Nährstoffe können nämlich außer den eigentlichen Proteinen und ihrer Abkömmlinge sehr viele andere stickstoffhaltige Stoffe enthalten. Außerdem gerinnen gewisse pflanzliche Globuline sehr schlecht oder selbst keineswegs durch Hitze. Die Histone gerinnen durch Hitze nur bei Salzgegenwart und neutraler Reaktion. Die Protamine werden größtenteils erst mit den Proteosen durch Zinksulfat gefällt. Die auf den Seiten 506 und 507 wiedergegebene Tabelle hat als Zweck eine rasche annähernde Orientierung über diese verwickelten Verhältnisse.

Aus allem Vorhergehenden erhellt, daß man noch keine strenge wissenschaftliche Grundlage zur Isolierung der Abbauprodukte der Verdauung der Proteine besitzt. Sowohl die oben angegebene Prozedur als die Angaben der beigefügten Tabelle müssen also als ganz vorläufig betrachtet werden.

Zu S. 239: Zur Isolierung der Proteosen.[1]) Weder das *Haslam*sche (Bd. III. S. 243—244) noch das *Adler*sche (Bd. III. S. 244—246) Verahren ergeben Proteosengemische, -Komplexe oder -Verbindungen mit einer gewissen Beständigkeit in ihrer chemischen Zusammensetzung und ihren Eigenschaften. Dies wird nur mittelst der *Pick*schen Methode erreicht. Die Heteroalbumose, die Protoalbumose, die Thioalbumose und die Synalbumose unterscheiden sich voneinander durch ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften, durch ihre chemische Zusammensetzung, durch ihre Umwandlungen unter dem Einflusse des Pepsins und des Trypsins, sowie durch biologische Eigenschaften, welche von der Ab- oder Anwesenheit gewisser Atomgruppen oder Aminosäuren abzuhängen scheinen. Ob die nach dem *Pick*schen Verfahren isolierten Proteosengemische, -Komplexe oder -Verbindungen tatsächlich als solche in den Lösungen der Spaltungsprodukte der Proteine unter dem Einflusse des Pepsins bestehen, ist indes keineswegs sicher. Vielleicht bilden sich diese Proteosengemische, -Komplexe oder -Verbindungen durch Vereinigung gewisser Albumosen oder Albumosengruppen erst während der wiederholten Fällungen mittelst Ammonsulfat und Alkohol[2]) (s. Bd. III. S. 239—243), denn die nach dem *Pick*schen Verfahren isolierten Proteosen scheinen, teilweise wenigstens, eine erheblichere Molekulargröße zu besitzen als die in der *Witte*-Peptonlösung enthaltenen Albumosen. *Birchard*[3]) hat nachgewiesen, daß die *Pick*sche Protoalbumose

[1]) *E. Zunz,* Contribution à l'étude de l'action des protéoses sur le coeur isolé de tortue. Arch. int. de physiol. T. **10**. p. 290—310 (1911). — Derselbe, Contribution à l'étude de l'action des protéoses sur la pression sanguine et la respiration. Ibid. T. **11**. p. 73—110 (1911). — Derselbe, A propos de l'anaphylaxie. Bull. de l'Acad. roy. de médec. de Belgique. 4e série. T. **25**. p. 425—461 (1911).

[2]) *Th. B. Osborne* and *J. F. Harris,* The precipitation limits with ammonium sulphate of some vegetable proteins. Journ. of the Amer. chem. Soc. Vol. **25**. p. 837—842 (1903); Amer. Journ. of Physiol. Vol. **13**. p. 436—447 (1905).

[3]) *F. J. Birchard,* Ein Beitrag zur Kenntnis der Protoalbumose des Fibrins. Inaug.-Dissert. Leipzig 1909.

aus mehreren Körpern besteht, nämlich aus einer geringen Menge Heteroalbumose, aus einer Hauptmenge Protoalbumose mit einem spezifischen Drehungsvermögen von zirka −77°, sowie aus einer anderen Substanz von beträchtlich höherem Drehungsvermögen. Mittelst der Ultrafiltration nach *Bechhold* sowie der Mastixbehandlung nach *Michaelis* und *Rona* läßt sich nachweisen, daß die *Pick*sche Heteroalbumose aus 2 verschiedenen Proteosen wenigstens besteht; dies ist für die Synalbumose und die Thioalbumose auch der Fall.[1])

Zu S. 239. Darstellung der Protoalbumose nach *Birchard.*[2]) 45 *g* nach dem *Pick*schen Verfahren aus *Witte*-Pepton isolierter Protoalbumose (Bd. III, S. 239 und 240) werden in 60 cm^3 destilliertem Wasser gelöst. Zu dieser Lösung fügt man unter stetiger Eiskühlung 2 *l* kaltgesättigten Barytwassers. Durch Einleiten von Kohlensäure unter fortwährendem Umrühren wird die Flüssigkeit gegenüber Phenolphtalein fast neutralisiert. Hierauf werden noch 700 cm^3 kaltgesättigten Barytwassers zugesetzt. Man läßt 10 Minuten im Eisgemisch erkalten. Dann saugt man rasch den entstandenen Niederschlag ab und wäscht ihn mit 150 cm^3 eiskaltem halbgesättigten Barytwasser. Dieser Niederschlag (Fraktion I) enthält noch Heteroalbumose und wird zurückgeworfen.

Das Filtrat (nebst dem Waschwasser) wird bei einer Temperatur von 2—4° C mit Barytpulver gesättigt und nachher mit Kohlensäure in der oben beschriebenen Weise behandelt. Diese Prozedur wird zweimal unter den gleichen Umständen wiederholt. Nun wird Baryt bis zur Halbsättigung zugesetzt. Nach 10 Minuten dauerndem Stehen in der Kälte wird der entstandene Barytniederschlag II rasch abgesaugt, mit 150 cm^3 kaltem halbgesättigten Barytwasser gewaschen, in Wasser aufgeschwemmt, mit Ammonkarbonat und Kohlensäure behandelt, schließlich auf dem Wasserbade erhitzt. Man filtriert das ausgeschiedene Baryumkarbonat und wäscht es mit heißem Wasser. Das Filtrat (nebst dem Waschwasser) wird im Vakuum bei 35° C zu einem kleinen Volumen eingedampft. Der Rückstand wird mit wenig Wasser sowie einigen Tropfen Essigsäure aufgenommen und nachher durch Hinzufügen eines großen Überschusses von 95%igem Alkohol ausgefällt. Dieser Niederschlag (Fraktion II) wird mit Alkohol und Äther ausgewaschen und zusammen mit den 3 weiteren Niederschlägen (Fraktionen III, IV und V) über Schwefelsäure getrocknet und gepulvert.

Das Filtrat vom Barytniederschlage II wird in derselben Weise wie das Filtrat des Niederschlages I behandelt, um die Barytniederschläge III, IV und V zu erhalten, aus welchen man die Protoalbumosefraktionen III, IV und V darstellt.

Das Filtrat vom Barytniederschlage V wird nicht weiter verarbeitet, denn der dann erhaltene Proteosenniederschlag besteht, außer der eigent-

[1]) *E. Zunz,* Nouvelles recherches sur les protéoses. Bull. de la Cl. des Sciences de l'Académie roy. de Belgique. 1911. p. 653—734.

[2]) *F. J. Birchard,* Ein Beitrag zur Kenntnis der Protoalbumose des Fibrins. Inaug.-Dissert. Leipzig 1909.

lichen Protoalbumose, noch aus einer anderen Substanz von höherem Drehungsvermögen als die Protoalbumose.

Zu S. 246: Eigenschaften der Proteosen. Nach *F. D'Onghia*[1]) zeigen von den aus *Witte*-Pepton nach den Verfahren von *E. P. Pick* und *E. Zunz* isolierten Proteosen und Peptonen, die Heteroalbumose, die Protoalbumose, die Deuteroalbumose A, die Deuteroalbumose B und das Pepton B, die durch *Pickering* und *Schiff* verbesserte *J. Gnezda*sche Reaktion, welche hingegen weder von der Deuteroalbumose C noch vom Pepton A noch von der Harnsäure, von den Purinbasen, vom Urobilin usw. gegeben wird. Um diese Reaktion anzustellen, vermischt man gleiche Mengen von flüssigem Ammoniak und von 5%iger Nickelsulfatlösung. Das so erhaltene Reagens hat eine bläuliche Farbe. Es ist keineswegs beständig und muß stets frisch bereitet werden. Man fügt einen Tropfen des Reagens zur vorher mittelst Kalilauge oder Natronlauge alkalisch gemachten zu untersuchenden Flüssigkeit. Bei Gegenwart der oben erwähnten Proteosen und Peptone entsteht sofort oder nach einigen Sekunden eine rotorange Färbung. Man erhält diese rotorange Färbung fast sofort bei Anwendung der nach dem *E. P. Pick*schen Verfahren dargestellten Proteosen (Heteroalbumose, Protoalbumose, Synalbumose, Thioalbumose). Die *Siegfried*schen Pepsinfibrinpeptone α und β geben die rotorange Färbung erst nach $1/_2$—1 Minute.

Diese Proteosen und Peptone zeigen die *Harden-Norris*sche Diacetylreaktion.

Ferrisulfat fällt einen großen Teil der Heteroalbumose und der Protoalbumose. Es trübt nur etwas die Lösungen der *E. P. Pick*schen Thioalbumose und fällt die Synalbumose keineswegs.[2])

Zu S. 249: Nachweis freier Aminosäuren in Verdauungsgemischen. Werden bei der Estermethode Proteine in absolutem Alkohol aufgeschwemmt und mit Salzsäuregas behandelt, so können Aminosäuren aus den Proteinen gespalten werden. Diese Spaltung erfolgt unter diesen Umständen auch sehr leicht aus Proteosen und Peptonen. Andrerseits kann bei unvollständiger Veresterung infolge leichter Verseifbarkeit des Glykokollesters diese Aminosäure, falls sie nur in geringer Menge vorhanden ist, der Auffindung leicht entgehen. Bei Gemischen von Proteinen, von ihren Spaltprodukten (Proteosen, Peptone, Polypeptide) und von Aminosäuren, wie dies in den Verdauungslösungen meistens der Fall ist, oder selbst bei Anwendung leicht spaltbarer Polypeptide allein, darf man die Estermethode zum Nachweis freier Aminosäuren nur äußerst vorsichtig benutzen mit allen erforderlichen Kautelen, d. h. unter fortwährender

[1]) *F. D'Onghia,* Di alcune albumosi e peptoni che non danno le reazioni finora ritenute caratteristiche. Riform. med. 1909. Vol. **25**. Nr. 26. — *L. H. Fittipaldi,* Eine neue Methode zum Nachweis der Albumosen im Harn. Deutsche med. Wochenschrift. Bd. **37**. S. 1890—1891 (1911).

[2]) *A. Harden* and *D. Norris,* The diacetyl reaction for proteine. Journ. of Physiol. Vol. **42**. p. 332—337 (1911). — *F. Röhmann* und *D. Shmamine,* Zur Kenntnis der Verbindungen von Ferrisalzen mit Albumosen. Biochem. Zeitschr. Bd. **42**. S. 249—254 (1912). — Vgl. auch die demnächst in den Arch. int. de Physiol. erscheinende Arbeit von *E. Zunz.*

Kontrolle durch Blindversuche.[1]) Unter diesen Bedingungen kann man aber nach *Abderhalden* und *Hanslian*[2]) Monoaminosäuren neben Polypeptiden mit Sicherheit nachweisen.

Kober[3]) hat nachgewiesen, daß fast alle Aminosäuren Kupfersalze bilden, welche durch Sieden mit einem geringen Alkaliüberschusse ihr Kupfer als Kupferhydrat abgeben. Vielleicht besitzen sogar alle Aminosäuren diese Eigenschaft. Die meisten kupfersalzbildenden Polypeptide geben hingegen unter diesen Bedingungen keineswegs ihr Kupfersalz als Hydrat ab. Dies ist auch der Fall für die Peptone, welche außerdem mehr Kupferhydrat bei Alkaligegenwart als sonst auflösen.

Demnach kann man den Spaltungsgrad der Polypeptide auf folgende Weise annähernd schätzen. Ein Teil der neutralen oder kaum alkalischen Verdauungsflüssigkeit wird einige Minuten mit einem Überschusse von Kupferkarbonat oder frisch gefälltem Kupferhydrat zum Sieden erhitzt. Bei nicht zu verdünnter Lösung genügen ungefähr 15 Minuten zur völligen Bildung der Kupfersalze. Nun filtriert man den Kupferhydratüberschuß ab. Das Filtrat wird zum Sieden erhitzt und dann mit 5—10 cm^3 dezinormaler Alkalilösung versetzt. Bei Aminosäurenanwesenheit entsteht ein Kupferniederschlag. Falls nach einigen Minuten bei weiterem Sieden kein Niederschlag erscheint, so sind keine freien Aminosäuren in der Verdauungsflüssigkeit vorhanden. Man muß stets einen Kontrollversuch ausführen, bei welchem die Verdauungsflüssigkeit durch die gleiche Menge destillierten Wassers ersetzt wird, um sich zu vergewissern, daß sich kein Kupferhydratniederschlag ohne Aminosäurenanwesenheit bildet.

Falls eine durch den roten Kupferoxydniederschlag angezeigte Reduktion erfolgt, so wird die Lösung vom reduzierten Kupferoxyde durch Filtration befreit, neutralisiert und darauf das neue Filtrat mit Kupferhydrat versetzt. Man muß alle reduzierenden Stoffe auf diese Weise oxydieren vor der schließlichen Behandlung mit Kupferhydrate. Eine geringe Ammoniakmenge stört die Reaktion nicht. Eine erhebliche Ammoniakmenge läßt sich beim Sieden nach der Bildung der Kupfersalze der Polypeptide und der Aminosäuren wegtreiben.

Um die Aminosäuren nach dem Verfahren von *Neuberg* und *Kerb*[4]) zu fällen, bedient man sich einer 25%igen Merkuriazetatlösung und einer

[1]) *E. Abderhalden, W. Klingemann* und *Th. Pappenhusen,* Zur Kenntnis des Abbaus der Eiweißkörper im Magendarmkanal verschiedener Tierarten. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 71. S. 411—420 (1911). — *B. O. Pribram,* Über die Anwendbarkeit der Estermethode bei Stoffwechselversuchen. Ibid. Bd. 71. S. 472—478 (1911).

[2]) *E. Abderhalden* und *R. Hanslian,* Über die Verwendbarkeit der Estermethode zum Nachweis von Monoaminosäuren neben Polypeptiden. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 77. S. 285—288 (1912). — *E. Abderhalden,* Über das Schicksal der Eiweißabbauprodukte im Darmkanal. Ibid. Bd. 78. S. 382—395 (1912).

[3]) *P. A. Kober,* A method for the study of proteolytic ferments. Journ. of biol. Chem. Vol. 10. p. 9—14 (1911).

[4]) *C. Neuberg* und *J. Kerb,* Über ein Fällungsmittel für Aminosäuren. Biochem. Zeitschr. Bd. 40. S. 498—512 (1912).

10%igen Natriumkarbonatlösung. Zur mit Na^2CO^3 bis zur deutlichen alkalischen Reaktion auf Lackmus unter Vermeidung eines Natriumkarbonatüberschusses versetzten Lösung fügt man bei Zimmertemperatur vorsichtig zuerst 5—8 Volumina 98%igen Alkohols und nachher kleine Mengen der Merkuriazetatlösung. Der erste einfallende Tropfen erzeugt manchmal eine gelbliche Fällung, die beim Umschütteln verschwindet und einem rein weißen Niederschlage Platz macht. Öfter muß man erst relativ erhebliche Mengen der beiden benutzten Salzlösungen zufügen, ehe die Ausscheidung anfängt. Dabei muß man beachten, daß man nach dem Alkoholzusatze nur eine verdünnte Natriumkarbonatlösung benutzen darf. Dann gibt man abwechselnd von den Reagenzien so lange hinzu, als der Niederschlag sich noch vermehrt und weiß bleibt. Nun gießt man noch soviel beider Salzlösungen oder einer davon nach, daß eine auch beim Durchrühren bestehen bleibende Gelbrotfärbung eintritt. Der Quecksilberniederschlag setzt sich nach öfterem Umrühren bald ab. Über der schwach gelbroten Fällung muß man eine klare, farblose, neutrale oder schwach alkalische Flüssigkeit erhalten, welche beim Zusatze je eines Tropfens verdünnter Natriumkarbonatlösung und Merkuriazetatlösung keinen weißen Niederschlag von Quecksilberaminosäureverbindung, sondern nur eine gelbrote Merkurikarbonatfällung erzeugen darf. Nach völliger Klärung der über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit wird die Fällung abgesaugt oder abfiltriert, indem man die ersten Anteile des Filtrates aufs Filter zurückbringt bis zur Erreichung eines völlig klaren Filtrates. Der Niederschlag wird gründlich mit 80%igem Alkohol gewaschen, noch feucht mit Wasser vom Filter abgespritzt, verrieben und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Nach vollendeter Einwirkung des Schwefelwasserstoffes wird kurze Zeit auf dem Wasserbade erhitzt. Dann leitet man noch einige Schwefelwasserstoffblasen durch die Aufschwemmung. Das Merkurisulfid setzt sich nun gut ab und wird abfiltriert. Falls das Filtrat noch Spuren von Schwefelquecksilber enthält, so scheiden sie sich beim Eindampfen der Flüssigkeit oder durch Zusatz von etwas kolloidalem Eisenhydroxyd ab. Man filtriert aufs neue die Flüssigkeit und erzielt schließlich ein klares Filtrat, welches beim Einengen die Aminosäuren völlig rein und schön kristallisiert zurückläßt.

Bei der Zersetzung der Quecksilberniederschläge muß man genügend Wasser anwenden, damit die freigemachte Aminosäure wirklich in Lösung gehen kann. Manchmal muß man deswegen in der Wärme arbeiten und sich eines Heißwassertrichters zur Filtration bedienen. Bei Vorhandensein großer Mengen schwer löslicher Aminosäuren (Tyrosin, Zystin) wird der Quecksilberniederschlag in verdünnter Salzsäure gelöst, dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt, und das vom Quecksilber befreite Filtrat mit Ammoniak neutralisiert, mit Natriumazetat versetzt oder auf anderer geeigneter Weise behandelt, um die Aminosäuren abzuscheiden.

Die Quecksilberfällungen der Aminosäuren sind sowohl trocken wie feucht bei gewöhnlicher Temperatur und selbst gegen Erwärmen einigermaßen beständig. Mit der Zerlegung der Glykokollverbindung darf man

aber jedoch nicht zu lange warten, denn es tritt dann leicht eine Graufärbung auf, welche Veränderungen der Glykokollverbindung aufweist.

Mittelst des Verfahrens von *Neuberg* und *Kerb* werden meistens mehr als 95% des Aminosäurenstickstoffes erhalten, beim Prolin und beim Valin hingegen aber nur 25—30%. Mittelst der Methode von *Neuberg* und *Kerb* werden Aminosäuren der α-, der β- und der δ-Reihe gefällt, wie Glykokoll, d, l-Alanin, d-Alanin, d, l-Valin, Leuzin, l-Asparaginsäure, d-Glutaminsäure, d, l-Serin, l-Zystin, d, l-Phenylalanin, l-Tyrosin, d, l-Prolin, l-Histidin, l-Tryptophan, d-Glykosamin, α-β-Diaminopropionsäure, d, l-Isoserin, δ-Aminovaleriansäure, Taurin, Phenylglykokoll, Glutamin, Asparagin, α-Amino-n-Buttersäure, β-Amino-n-Buttersäure. Außerdem werden die nach dem *E. P. Pick*schen Verfahren dargestellten Heteroalbumose und Protoalbumose teilweise gefällt.

Zu S. 249: **Nachweis der Aminosäuren, der Polypeptide und der Proteine mittelst der p-Kresol-Tyrosinase.** Dieses Verfahren wurde bereits von *Chodat*[1]) beschrieben. Als Reagens benutzt man eine 0·25%ige Lösung von nach den *Chodat*schen Angaben[2]) dargestellter Kartoffeltyrosinase, zu welcher man das gleiche Volumen einer p-Kresol-Lösung zu 1/250 fügt. Manchmal muß man die Menge der p-Kresol-Lösung oder die Konzentration der Tyrosinaselösung vermehren. Dieses Reagens gibt mit Glykokoll, Leuzin, Tyrosin, Tryptophan, Alanin, Valin, Serin, Zystin, Glutamin, Arginin und wahrscheinlich noch anderen Aminosäuren eine rote Farbe, deren Stärke und genauer Farbenton je nach den vorhandenen Aminosäuren wechseln. Nach einer von der anwesenden Aminosäure abhängenden, mehr oder minder langen Zeit geht allmählich die rote Farbe zur blauen über und schließlich erreicht man die dichroitische Kresolazurfärbung. Tyrosin gibt wohl die blaue Färbung, nicht aber den Dichroismus. l-Alanin erzeugt erst nach 48 Stunden die charakteristische dichroitische blaue Färbung; d-Alanin gibt dann nur eine dichroitische dunkelviolette Färbung, α-Prolin eine starke etwas violette fuchsinrote Färbung, Zystin eine grüne Färbung.[3])

Glyzyl-l-tyrosin, Diglyzylglyzin, Glyzyl-d-alanin, d-Alanyl-d-leuzin, l-Alanylglyzylglyzin, l-Leuzyl-l-leuzin, sowie wahrscheinlich die meisten Polypeptide, deren NH^2- und COOH-Gruppen durch eine oder mehrere Peptidketten verbunden sind, bewirken das Rotwerden des p-Kresols unter dem Einflusse der Tyrosinase; die rote Farbe geht nur langsam zur blauen über. Am Anfange der Reaktion wenigstens zeigt jedes Polypeptid entweder einen charakteristischen Farbenton oder eine besondere Raschheit der Reaktion.

Hippursäure zeigt manchmal, nach Neutralisierung mittelst Natriumbikarbonates, eine schwache Rosafärbung beim Zusatze des p-Kresol-Tyrosinasereagens.

---

[1]) *R. Chodat*, d. Handb. Bd. 3. S. 60—62.

[2]) *R. Chodat*, d. Handb. Bd. 3. S. 57—58.

[3]) *R. Chodat*, Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. Arch. des sc. phys. et nat. 4e période. T. 33. p. 70—95 et 225—348 (1912).

Die Asparaginsäure und die Anthranilinsäure geben keine Färbung mit dem p-Kresol-Tyrosinasereagens. Das Diketopiperazin oder Glyzylglyzinanhydrid sowie alle Polypeptidanhydride geben nicht oder nur unvollkommen mit Tyrosinase und p-Kresol die charakteristische Reaktion der Aminosäuren.

Die Proteine, der Leim sowie die nach dem Verfahren von *E. P. Pick* dargestellten Proteosen und die *Siegfried*schen Pepsinfibrinpeptone bewirken eine mehr oder minder ausgeprägte Färbung des p-Kresol-Tyrosinasereagens, welche zum Blau nicht übergeht. In 1 oder 2%iger Lösung zeigt jedoch nach 24 Stunden das *Siegfried*sche Pepsinfibrinpepton B eine ins Violett zu übergehen strebende Granatrotfärbung.

Die Stärke der beim Zusatz des p-Kresol-Tyrosinasereagens erzielten roten Färbung nimmt mit den Fortschritten des Verdauungsprozesses zu, was mit der Vermehrung der NH^2- und COOH-Gruppen bei der Spaltung der Proteine in Einklang steht. Bei der hydrolytischen Spaltung der Proteine entstehen zuerst Polypeptide, welche mit dem p-Kresol-Tyrosinasereagens eine flaschengrüne Farbe geben, und erst später Polypeptide, welche die dichroitische Kresolazurfärbung zeigen. Da dieser Dichroismus nicht immer leicht sichtbar ist, muß man manchmal die Verdauungsflüssigkeit mit Wasser stark verdünnen, um ihn nachzuweisen. Je vorgeschrittener die Verdauung der Proteine ist, je stärker und ausgeprägter wird die blaue Färbung.

Man kann also bei Anwendung des p-Kresol-Tyrosinasereagens die Anwesenheit von freien Aminosäuren und von relativ einfachen Polypeptiden durch den Übergang der roten Färbung zur blauen mit rotem Dichroismus feststellen. Außerdem läßt sich mit Tyrosinase allein (ohne p-Kresol) in der schon beschriebenen Art [1]) ersehen, ob die Verdauungsflüssigkeit tyrosinhaltige Polypeptide oder freies Tyrosin enthält. Diese sogenannte *Harlay*sche Reaktion wird weder von den nach dem Verfahren von *E. P. Pick* dargestellten Proteosen noch von den *Siegfried*schen Pepsinfibrinpeptonen gegeben.[2])

Da die Stärke der Färbung des p-Kresol-Tyrosinasereagens von den Aminokarboxylgruppen abhängt sowie vielleicht außerdem noch unter gewissen Bedingungen von den CO.NH-Gruppen (in den offenen Ketten), so muß man stets die mit dem Reagens erzielte Farbe der Verdauungslösung mit 2 Kontrollproben vergleichen, wovon die eine mittelst den der Verdauung unterworfenen Proteinen angestellt wird und die andere mittelst Glykokoll. Da andrerseits der Übergang der roten Färbung zur blauen nur bei Gegenwart einer genügenden Menge von Aminosäuren vor sich geht, muß man oft die Verdauungslösung vor Anstellung der p-Kresol-Tyrosinasereaktion konzentrieren.

---

[1]) *R. Chodat*, d. Handb. Bd. 3. S. 62.

[2]) Vgl. die demnächst in den Arch. int. de Physiol. erscheinende Arbeit von *E. Zunz*.

Zu S. 249: Verwendung von Triketohydrindenhydrat zum Nachweis von Proteinen und deren Abbauprodukte. 10 *cg* Triketohydrindenhydrat werden in 30 bis 40 cm^3 Wasser gelöst. Von dieser Lösung gibt man 1 bis 2 Tropfen zu 1 cm^3 der neutralisierten zu prüfenden Flüssigkeit und erhitzt kurze Zeit bis zum Sieden. Beim Abkühlen zeigt sich dann beim positiven Ausfall der Reaktion eine mehr oder weniger ausgeprägte Blaufärbung. Zu empfehlen ist in allen Fällen eine Kontrolle des Reagens unter Anwendung der eben gerade noch nachweisbaren Menge einer Aminosäure.[1])

Die Blaufärbung scheint nur dann aufzutreten, wenn neben einer freien Aminogruppe eine freie Carboxylgruppe vorhanden ist. Sie wird durch Proteine, Peptone, Polypeptide und Aminosäuren gegeben, mit Ausnahme des Prolins, des Oxyprolins und der Pyrrolidonkarbonsäure. Letztere 3 Säuren besitzen keine Amino-, sondern eine Iminogruppe. Die Reaktion erfolgt auch beim Vorhandensein mehrerer Amino- und Carboxylgruppen. Ob die Stellung der Aminogruppe zur Carboxylgruppe in Betracht kommt, ist noch nicht entschieden.

Bei schwach saurer Reaktion der untersuchten Flüssigkeit erhält man zwar noch die Blaufärbung, jedoch mit einem Stich ins Rötliche. Bei stark saurer Reaktion tritt Rotviolett- bis Rotfärbung ein oder bleibt sogar jede Färbung aus. Die alkalische Reaktion verhindert jede Blaufärbung. Man muß Ammoniak durch vorsichtiges Verdampfen der Lösung vertreiben.

Zu S. 251: Physikalisch-chemische Verfahren zur Untersuchung des Abbaues der Proteine. *Galeotti*[2]) hat nachgewiesen, daß die Spaltung der Proteine durch Fermente von einer Volumenabnahme der Lösung begleitet ist. Mittelst des Dilatometers kann man bis zu einem gewissen Grade den Verlauf des Abbaues gelöster Proteine verfolgen. Die gegen die anderen physikalisch-chemischen Methoden erhobenen Einwände scheinen jedoch auch für dieses Verfahren zu gelten.[3]) Jedenfalls kann die dilatometrische Methode nur bei Untersuchung der Wirkung eines gegebenen Verdauungssaftes oder einer Fermentlösung auf eine Substratlösung angewandt werden. Unter diesen Bedingungen kann man diese Methode auch zur Untersuchung des Abbaues der Kohlehydrate und der Fette benutzen.

Sowohl der Verdauungssaft oder die Fermentlösung als die Substratlösung werden zuerst bei einer Temperatur von zirka 40° C eine halbe Stunde oder länger im Vakuum gelassen, um sie von den aufgelösten Gasen zu befreien.

[1]) *S. Ruhemann,* Triketohydrindene Hydrate. Transact. of the Chem. Soc. Bd. **97**. p. 2025 (1910). — *E. Abderhalden* und *H. Schmidt,* Über die Verwendung von Triketohydrindenhydrat zum Nachweis von Eiweißstoffen und deren Abbaustufen. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **72**. S. 37—42 (1911).

[2]) *G. Galeotti,* Dilatometrische Untersuchungen bei den hydrolytischen Spaltungen. Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. **76**. S. 105—126 (1911).

[3]) *T. Gayda,* Dilatometrische Untersuchungen über die Hitzekoagulation und die Lösung des Albumins. Biochem. Zeitschr. Bd. **39**. S. 400—409 (1912).

Man verwendet einen gewöhnlichen Dilatometer, bei welchem die Ampulle etwa 12 cm^3 Flüssigkeit enthält und die mit Quecksilber kalibrierte Gaskapillare 0·008 bis 0·009 cm^3 pro Zentimeter entspricht. Nachdem der Dilatometer mit dem Gemische der Substratlösung und der Enzymlösung gefüllt ist, werden seine beiden Enden zugeschmolzen. Beide Flüssigkeiten werden vor der Vermischung auf die Temperatur erwärmt, bei welcher der Versuch vor sich geht (meistens 38—40° C); die Vermischung erfolgt unmittelbar vor der Füllung des Dilatometers.

Als Thermostat muß man einen Apparat mit einer Glaswand benutzen, in welchem die Temperatur keinen größeren Schwankungen als $^1/_{20}$° C ausgesetzt ist.

Das Anfangsvolumen der Gesamtflüssigkeit wird durch sofortige Versenkung des rasch bereiteten Dilatometers in den Thermostaten und Verfolgung der Verschiebungen des Meniskus in der Kapillare und Ablesung alle 30 Sekunden auf der am Dilatometer angebrachten Skala festgestellt. Zunächst steigt der Meniskus um einige Millimeter, bis das Dilatometer die Temperatur des Thermostaten erreicht hat, dann bleibt er auf einem Maximum stehen, welches man als Anfangsvolumen annimmt. Von nun an geschehen die Ablesungen der Höhe des Meniskus in geeigneten Zwischenräumen.

Fig. 161.

g a b c d e f

Statt des gewöhnlichen Dilatometers kann man sich auch manchmal mit Vorteil des durch *Galeotti*[1]) vorgeschlagenen Apparates bedienen, welcher die Feststellung der bei Vermischung von 2 Flüssigkeiten eintretenden Volumschwankungen erlaubt.

Dieses Dilatometer (Fig. 161) besteht aus einer U-förmigen Röhre von zirka 12 *mm* Durchmesser, in welcher im Mittelpunkt der Krümmung eine 50 *cm* lange Kapillare *g* eingefügt ist. An den Enden der Schenkel befinden sich zwei kleine Röhren *c* und *d* von einem Durchmesser von zirka 2 *mm*. Man verschließt zunächst über der Flamme das spitze Ende *f* und saugt dann in *a* eine bestimmte Menge einer der miteinander zu vermischenden Flüssigkeiten. Hierauf füllt man mit Toluol, wobei man dafür Sorge trägt, daß nur diese Flüssigkeit in der Röhre *c* bleibt. Man verschließt das spitze Ende *e* über der Lampe. Nun bricht man das Ende *f* auf, saugt in *b* eine bekannte Menge der zweiten zu vermischenden Flüssigkeit und füllt ganz mit Toluol, bis der Meniskus dieser Flüssigkeit eine angemessene Höhe in der Kapillare erreicht. Endlich wird das Ende *f* über der Lampe wieder geschlossen. Man muß dafür Sorge tragen, daß in keinem Teile des Dilatometers eine Luftblase zurückbleibt.

Alsdann bringt man den *Galottischen* Dilatometer in den Thermostaten. Nach Erreichung des vollständigen Gleichgewichtes der Tempe-

[1]) *G. Galeotti*, Dilatometrische Untersuchungen über die Fällungen der Eiweißkörper. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 78. S. 421—424 (1912).

ratur zwischen Dilatometer und Thermostat liest man die Höhe des Meniskus in der Kapillare auf der beigefügten Skala. Hierauf nimmt man den Apparat aus dem Thermostaten und bewirkt durch geeignete Bewegungen die Mischung beider in *a* und *b* untergebrachten Flüssigkeiten. Die Mischung erfolgt sofort leicht und vollständig. Dann bringt man den Dilatometer wieder in den Thermostaten. Man vergewissert sich, daß das Temperaturgleichgewicht wieder eingetreten ist, und liest nun auf der Skala den neuen Standpunkt des Meniskus. Dieser Punkt wird als Anfangsvolumen betrachtet. Nachher geschehen die Ablesungen der Höhe des Meniskus des in den Thermostaten während dem ganzen Versuche bleibenden Dilatometers in geeigneten Zwischenräumen.

Das stalagmometrische Verfahren eignet sich keineswegs zum Studium der Proteine durch die Verdauungssäfte, denn die Wirkung der Proteosen, der Peptone und der anderen Abbauprodukte der Proteine auf die Oberflächenspannung des Wassers scheint keineswegs vom Abbaustadium abzuhängen, bei welchem sie entstehen.[1])

Über die Vor- und Nachteile des viskosimetrischen Verfahrens bei der Untersuchung des Abbaues des Leimes hat neuerdings *v. Groër*[2]) wichtige Angaben veröffentlicht. Die Empfindlichkeit der viskosimetrischen Methode gegenüber sehr geringen Enzymmengen ist sehr groß. Durch dieses Verfahren erhält man eine in Zahlen ausgedrückte Darstellung der Fermentwirkung, die sich für alle messenden und vergleichenden Untersuchungen außerordentlich gut eignet. Außerdem kann man an einer und derselben Lösung das Fortschreiten der Enzymwirkung beobachten. Bei der Verwertung der mit der viskosimetrischen Methode erhaltenen Ergebnisse muß man aber äußerst vorsichtig sein. Arbeitet man nämlich mit ziemlich weiten und kurzen Kapillaren, so leidet darunter die Richtigkeit der Viskositätsberechnung. Benutzt man hingegen sehr enge Kapillaren, d. h. verlängert man wesentlich die Durchflußzeit, so kann man mit der Fermentwirkung während der Beobachtungszeit zu rechnen haben. Nun läßt sich diese Enzymwirkung während der Bestimmungszeit nur unter gleichzeitiger Beeinflussung der inneren Reibung unterbrechen.

Die Wirkung des Pepsins im Magensaft läßt sich mit Hilfe der *Abderhalden*schen optischen Methode (Änderung des optischen Drehungsvermögens) nicht bei Anwendung gelöster oder genuiner Proteine feststellen, wohl aber bei Gebrauch von geronnenen oder festen Proteinen. Die Säure

---

[1]) *E. Zunz*, Recherches stalagmométriques sur les albumoses et les peptones. Bull. de la Soc. roy. des Sc. méd et nat. de Bruxelles. T. **64**. p. 187—203 (1906). — Derselbe, Contribution à l'étude de la digestion et de la résorption des protéines dans l'estomac et dans l'intestin grêle chez le chien. Mém. cour. et autres mém. publ. par l'Acad. roy. de médec. de Belgique. T. **20**. fasc. 1. p. 1—65 (1908). — *P. Rona* und *L. Michaelis*, Experimentelle Beiträge zur Eiweißspaltung und Beobachtungen über Seife-Eiweißverbindungen. Biochem. Zeitschr. Bd. **41**. S. 165—173 (1912).

[2]) *F. v. Groër*, Über die Prodigiosusgelatinase. Biochem. Zeitschr. Bd. **38**. S. 252 bis 284 (1912).

allein übt nämlich dieselbe Wirkung wie Magensaft auf gelöste Proteine. Proteosen-Peptonegemische lassen keine Einwirkung von Magensaft oder Salzsäure mittelst der optischen Methode erkennen.[1])

Zu S. 252: Isolierung der Abbauprodukte der Verdauung der Nukleoproteide. Die Nukleinsäure erleidet im Magen keine Veränderung, unterliegt aber im Dünndarme einer Aufspaltung mit Bildung geringer Nukleosidenmengen. Diese Aufspaltung wird hauptsächlich durch den Darmsaft bewirkt, sie geht nicht in den oberen Darmabschnitten weiter als die Nukleosiden. Die Verarbeitung der nucleinsäurehaltigen Verdauungslösungen mittelst fraktionierter Bleiazetatfällung und Bestimmung des Stickstoffes in den einzelnen Fraktionen wird neuerdings von *London*, *Schittenhelm* und *Wiener*[2]) mit Vorteil benutzt.

---

[1]) *E. Abderhalden* und *E. Steinbeck*, Beitrag zur Kenntnis der Wirkung des Pepsins und der Salzsäure. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **68**. S. 293—316 (1910).

[2]) *E. S. London*, *A. Schittenhelm* und *K. Wiener*, Verdauung und Resorption von Nukleinsäure im Magendarmkanal. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **70**. S. 10—18 (1910); Bd. **72**. S. 458—462 (1911); Bd. **77**. S. 86—91 (1912). — *A. Schittenhelm* und *K. Wiener*, Über den Abbau der Nukleinsäure durch Organfermente. Ibid. Bd. **77**. S. 77—85 (1912). — *P. Levene* and *F. Medigreceanu*, On nucleases. Journ. of biol. Chem. Vol. **9**. p. 65—83 and 389—402 (1911). — Dieselben, The action of gastro-intestinal juices on nucleid acids. Ibid. Vol. **9**. p. 375—388 (1911).

Neue Methoden zum Studium des Weiterlebens von Geweben in vitro.

Von **Alexis Carrel**, New-York.

Letztes Jahr beschrieb ich in diesem Handbuch, Bd. V, unter Mitarbeit von Herrn *M. T. Burrows* Untersuchungen, die sich auf die schönen Versuche *Harrisons* über das Wachstum des zentralen Nervensystems von Froschembryonen in vitro gründeten und die uns ermöglicht hatten, außerhalb des Organismus sowohl ausgewachsene als auch fötale Gewebe und Säugetiertumoren zu züchten. Die Technik, die wir früher angewandt haben, genügte bereits zum Studium verschiedener Probleme. Sie erwies sich jedoch als ungenügend für gewisse Untersuchungen, die sich auf die Dynamik lebender Zellen und auf die Natur ihrer Sekretionsprodukte beziehen, und zwar vor allem deshalb, weil das Leben jener Kulturen zu kurz war, und weil ferner die Menge Gewebe, die man selbst bei Anwendung sehr großer hohlgeschliffener Objektträger züchten konnte, doch noch zu gering war. Ich habe mich deshalb bemüht, eine neue Methode ausfindig zu machen, die gestattet, die Lebensdauer und die Menge des in vitro zu züchtenden Gewebes zu erhöhen. Nach Auffinden der erforderlichen Technik habe ich mich dann mit gewissen Funktionen der betreffenden Kulturen beschäftigt.

I. Die Entwicklungsperiode einer mit der im vorigen Jahre beschriebenen Methode hergestellten Kultur war relativ kurz. Sie umfaßte 2—14 Tage. Manchmal konnte die Lebensdauer durch Transplantation des Gewebes in ein neues Milieu verlängert werden. Aber immer trat nach zwei- bis dreimaligem Wechsel der Kulturflüssigkeit der Tod ein.

Es ist wohl möglich, daß das frühzeitige Altern und Absterben nicht nur darauf zurückzuführen war, daß sich die Gewebe außerhalb des Organismus befanden, sondern auf irgend welchen zufälligen Umständen beruhte, wie z. B. vor allem auf der Anhäufung von Abbauprodukten und auf Erschöpfung des Nährmileus. Unter Vermeidung dieser Möglichkeiten konnte an eine Verjüngung der gealterten Zellen gedacht werden. Zur Erreichung dieses Zieles wurde zunächst folgender Weg eingeschlagen. Kulturen von Bindegewebe, dessen Wachstumstätigkeit sich bereits verlangsamt hatte, wurden einige Minuten lang mit *Ringer*scher Lösung gewaschen und in ein neues Milieu gebracht. Das Wachstum des Bindegewebes nahm dann bedeutend zu.

Durch wiederholte Waschungen und Passagen gelang es, die Kulturen länger als einen Monat in voller Tätigkeit zu erhalten. Dieses Resultat

zeigt, daß Altern und Absterben der Kulturen, wenigstens in gewissen Grenzen, von zufälligen Erscheinungen abhängig sind. Die Möglichkeit ist gegeben, daß Bedingungen gefunden werden, unter denen es gelingt, Gewebe, die aus dem Organismus entfernt sind, dauernd am Leben zu erhalten. Nach solchen Bedingungen wurde nun geforscht.

Das Ideal wäre gewesen, den Kulturen einen künstlichen Kreislauf zu verschaffen, der sowohl für die Ernährung des Gewebes als auch für die Fortschaffung der Stoffwechselprodukte sorgte. Es wurde zunächst versucht, dieses Problem so zu verwirklichen, daß die im Plasma eingeschlossenen Gewebe mittelst Serums oder mit *Ringer*scher Lösung gewaschen wurden. Diese Flüssigkeiten wurden mit Hilfe eines Stückchens Filtrierpapier zugefügt. Endlich wurde so vorgegangen, daß die gallertartige Plasmamasse, in die das Gewebe eingebettet war, in einen großen Überschuß von Serum gebracht wurde. Es zeigte sich jedoch, daß man in anderer Weise, und zwar mit Hilfe eines indirekteren und einfacheren Verfahrens besser zum Ziele gelangt, als in der vorher skizzierten Weise. Nach den Untersuchungen über die Verjüngung der Kulturen zu schließen, konnte man annehmen, daß Gewebe, die in einen gewissen Zustand des unterbrochenen Lebens gebracht worden waren, auch ohne irgend einen Kreislauf dauernd am Leben erhalten werden konnten. Dieses alternierende Leben der vom Organismus getrennten Gewebe konnte durch aufeinanderfolgende Wiederholung zweier Phasen erzielt werden: 1. Eine Phase des im Nährboden und im Brutschrank manifestierten Lebens, 2. eine Phase des latenten Lebens in der *Ringer*schen Lösung und im Eisschrank. Am Ende des Jahres 1911 war es nun bereits gelungen, Bindegewebe 2 Monate lang im Zustande des manifestierten Lebens zu erhalten. Unglücklicherweise starben dann aber sämtliche Gewebe an den Folgen einer Infektion.

In einer neuen am 17. Januar 1912 begonnenen Versuchsserie wurden mit Hilfe sorgfältig vorgenommener technischer Vorsichtsmaßregeln die septischen Einflüsse vermieden. Diese Untersuchungen wurden mit Kulturen von Herz und von Blutgefäßen von Hühnchenembryonen, die 7 und 18 Tage alt waren, ferner mit *Rous*-Sarkom und schließlich mit Knochenhautkulturen eines erwachsenen Hundes ausgeführt. Die angewandte Technik war sehr einfach. Die Kulturen wurden alle 3 oder 4 Tage eine oder zwei Minuten lang oder auch länger mit *Ringer*scher Lösung gewaschen und darauf in einen neuen Nährboden gebracht. Die dabei erhaltenen Resultate waren ausgezeichnete: Am ersten Juni waren die ursprünglichen sowie die neu entstandenen Gewebe, nachdem sie bereits 47 bis 48 Passagen durchgemacht hatten, noch lebenskräftig. Während dieser Zeit von 4½ Monaten wurden zahlreiche Beobachtungen über morphologische und dynamische Eigenschaften der Gewebe gemacht.

A. Morphologische Eigenschaften.

Das Gewebsfragment wurde rasch von Zellen umgeben, welche sich im Nährboden in dünner Schicht ausbreiteten. Nach Abtrennen des Plasmas

zog sich das neue Gewebe um das ursprüngliche Fragment in Form einer opaken Zone herum. Während des Auswaschens veränderte sich die Kultur nicht. Sobald sie in einen neuen Nährboden gebracht worden war, erschienen an den Rändern des alten Plasmas längliche Zellen, die in das neue Plasma eindrangen. Nach einigen Passagen hatte das ursprüngliche Fragment an Volumen abgenommen und befand sich in der Mitte einer dichten Schicht grauen Gewebes, wovon sich zahlreiche runde oder längliche Zellen ausbreiteten. Oft war es mit mehreren konzentrischen Ringen umgeben, deren jeder eine Periode aktiven Lebens darstellte. Diese Ringe gingen schließlich meistens in ein homogenes Gewebe über. Blieben sie deutlich bestehen, so konnte man daran die Zahl der vorherigen Passagen der Kultur erkennen, geradeso, wie man das Alter eines Baumes auf einem Durchschnitt seines Stammes ablesen kann. Die Form der Kultur änderte sich mit dem Alter, und zwar war sie am Anfang gleich einer dünnen Platte. Nach und nach nahm sie jedoch eine mehr oder weniger abgeplattete sphärische Gestalt an, in deren Mitte sich Fremdkörper und gelbliche Reste des alten Plasmas befanden, welche von den neuen lebenden Zellen umgeben und eingekapselt worden waren.

Das Aussehen der Zellen veränderte sich manchmal periodisch. Am Anfang einer jeden Phase des manifestierten Lebens strahlten spindelförmige, dünne, längliche und mit hellem Zytoplasma versehene Zellen von der Peripherie des ehemaligen Plasmas aus. Nach 4 oder 5 Tagen neuen Lebens waren die Zellen voluminöser. Ihr Zytoplasma, das dunkler geworden war, enthielt größere Körnchen, und das Wachstum hatte sich verlangsamt. Nach einer Waschung und einer Passage wurden die Zellen heller und ihr Wachstum beschleunigte sich wieder. In den Zellen des *Rous*-Sarkoms verschwanden die runden Zellen bereits nach einigen Tagen, dagegen zeigten sich noch nach 40 Tagen spindelförmige Zellen in dem neuen Plasma nach jeder Passage. Das Aussehen der Kulturen des Bindegewebes veränderte sich allmählich während des dritten und besonders des vierten Monats. Dabei verminderte sich die Zahl der runden und der spindelförmigen Zellen und eine Menge amöboider Zellen erschien. Nach dem fünften Monat bestanden diese Kulturen überhaupt nur noch aus amöboiden Zellen.

B. Dynamische Eigenschaften.

a) Die Wachstumsgeschwindigkeit wurde durch die folgenden Faktoren beeinflußt: gewisse geringfügige Veränderungen in der Zusammensetzung des Nährbodens, in seinem osmotischen Druck, seiner Temperatur, ferner durch die Art, in welcher das gallertartige Plasma geschnitten worden war, durch die Menge des um das Gewebe herum belassenen Plasmas, durch die Kulturform und endlich durch die mehr oder weniger große Anzahl der Passagen. Oft schien die Zunahme der Zellwucherung in direkter Beziehung zu dem Alter der Kultur zu stehen. In verschiedenen Kulturen, die mehr als zwei oder drei Monate alt waren, wuchs das Bindegewebe so schnell wie ein Fragment des *Rous*-Sarkoms oder wie ganz

junges Embryogewebe. Ein kleines Herzfragment wurde im Laufe des dritten Monats innerhalb 60 Stunden mit einem so dichten Zellager umgeben, daß es eine Oberfläche einnahm, die bereits 64mal größer war als die des ursprünglichen Fragments. Kulturen von Bindegewebszellen wuchsen am Anfang des 5. Monats viel schneller als während irgend einer anderen Periode ihres Lebens.

Auch in betreff der Masse der Gewebe waren große Änderungen zu bemerken. Während langer Perioden vermehrte oder verminderte sie sich oder sie blieb schließlich auch stationär. Die Volumenveränderungen waren von zufälligen Umständen abhängig, so z. B. von der Zerstörung der Zellen während Vornehmens der Passagen, von der Konzentration des Nährbodens und schließlich von den lokalen Bazilleninfektionen. Zuweilen war es schwierig, das Wachstum einer Kultur zu beurteilen, denn eine Änderung in betreff der Dichtigkeit des Gewebes konnte leicht eine Wachstumszunahme vortäuschen. Hatte man aber zu dem Plasma einen Tropfen *Ringer*scher Lösung gebracht, der lebende Zellen in Suspension hielt, so sah man deutlich, daß diese vereinzelten Zellen sich vermehrten und nach ungefähr 14 Tagen ein wirkliches Gewebe bildeten.

Das Studium der Kulturen von Bindegewebszellen, die am 17. Januar präpariert worden waren, hat einwandfrei bewiesen, daß die Masse der Gewebe sich während des Lebens in vitro beträchtlich vermehren kann.

b) Während des ersten Lebensmonates der Gewebe in vitro vermehrten sich die Zellen rasch an der Peripherie der Fragmente. Nach jeder Überführung aber verminderte sich der zentrale Teil der Kultur und zahlreiche tote Zellen wurden ausgeschieden. Die Masse der Gewebe vermehrte sich von diesem Zeitpunkt an zunächst nicht mehr, sondern sie verminderte sich im Gegenteil langsam bis Anfang des zweiten Monats. In dieser Zeit blieb das Volumen der Kulturen unverändert, bis schließlich nach und nach wieder ein Wachstum zu bemerken war. Am Ende des zweiten Monats war dieses Wachsen bereits sehr bemerkenswert. Zu diesem Zeitpunkt lebten von den am 17. Januar angesetzten 16 Kulturen noch 5. Eine dieser Kulturen starb an Infektion am Anfang des 3. Monats, so daß zur weiteren Beobachtung nur noch 4 Kulturen übrig blieben.

Diese 4 Kulturen standen in voller Tätigkeit. Während des dritten Monats vermehrte sich ihre Masse so sehr, daß sie zerteilt werden mußte, und daß so, direkt oder indirekt, aus ihnen mehr als 20 neue Kulturen hervorgingen. Die Dimensionen des in jeder dieser Kulturen vorhandenen Gewebes waren dabei größer als am Anfang. Die Gesamtmasse der Gewebe war am Ende des dritten Monats wenigstens 15mal umfangreicher als anfangs desselben Monats. Während des ersten Teils des vierten Monats traten leider verschiedene leichte Unfälle ein, wodurch das Wachstum der Gewebe etwas verhindert wurde. Hierauf, während des vierten und fünften Monats, wuchs die Masse der Gewebe wieder in deutlicher Weise. Alle Kulturen konnten dann mehrmals geteilt werden. Es scheint also, daß das Bindegewebe in vitro im Zustande dauernden manifestierten Lebens erhalten werden kann.

II. Es wurde möglich, reine Zellkulturen zu erhalten, die einem bestimmten morphologischen Typus angehörten. Fragmente von der gallertartigen Plasmamasse, die einige wenige Zellen zerstreut enthielten, wurden aus Kulturen, die älter als 2 Monate waren, exstirpiert und wiederholten Waschungen und Passagen unterworfen. Die Zellen vermehrten sich dabei sehr schnell und ein neues, sehr dichtes Gewebe trat hervor. Es mögen hierzu einige nähere Beschreibungen folgen:

Eine Gruppe runder Zellen, die der Peripherie einer 74 Tage alten Bindegewebskultur entnommen worden war, wurde gewaschen und in frisches Plasma gebracht. Es trat rasch Vermehrung ein. Nach einigen Passagen verwandelten sich diese Zellen in längliche und erzeugten eine Masse dichten Bindegewebes. Nach 30 Tagen entsprossen aus der zentralen Masse noch zahlreiche längliche Zellen.

Bei einem anderen Versuche wurde eine Gruppe amöboider Zellen von der Peripherie einer 63tägigen Herzkultur isoliert und wiederholten Passagen ausgesetzt. Es bildete sich bald ein wirkliches Gewebe, woraus amöboide Zellen abgesondert wurden. Diese Kultur wurde jetzt in zwei Teile zerlegt. Der eine Teil wurde in Plasma gebracht. Sie behielt ihre morphologischen Eigenschaften immer bei und erzeugte sehr zahlreiche amöboide Zellen. Der andere Teil wurde im Plasma auf Seide kultiviert. Das Aussehen der Zellen modifizierte sich danach bald. Die Zellen sammelten sich zu Haufen an, aus denen Ketten länglicher und verzweigter Zellen ausstrahlten. Alle amöboide Zellen verschwanden dabei.

Die reinen Kulturen amöboider Zellen wurden zahlreichen Passagen unterworfen: 130 Tage nach der Exstirpation des Gewebsfragmentes, aus dem diese Zellen hervorgegangen waren, befanden sie sich noch in voller Tätigkeit.

Diese Versuche zeigten erstens, daß es möglich ist, aus einer alten Kultur Zellen zu isolieren, die einem bestimmten morphologischen Typus angehören, und ferner, daß auf diese Weise reine Kulturen erhalten werden können. Diese Methode wird bei zahlreichen zytologischen Untersuchungen anwendbar sein.

III. Es war nun zweifellos wichtig, eine Methode zu finden, die erlaubt, unter günstigen Bedingungen umfangreiche Gewebskulturen zu präparieren. Da das Verfahren, das wir im vorigen Jahre beschrieben haben, nur unbestimmte Resultate geliefert hatte, so suchte ich danach, eine bessere Technik ausfindig zu machen, welche die Gewebskultur in solchen Mengen erhalten ließ, daß ihre Funktionen gründlich studiert werden konnten.

1. Präparieren der Gewebe. Die Gewebe werden in *Ringer*scher Lösung in sehr kleine Stückchen zerschnitten. Es gelingt leicht, Gewebe von Hühnchenembryogewebe oder überhaupt von Fragmenten so zu zerkleinern, daß der Durchmesser der Teilchen 0·5 *mm* nicht überschreitet. Manche Gewebe können nicht so fein zerschnitten werden. Wenn die Fragmente zerdrückt worden sind, wachsen sie nicht mehr. Zur weiteren Verarbeitung wird die *Ringer*sche Lösung, welche die Gewebe in Suspension

enthält, mit einer großen Pipette aufgesaugt. Mit jedem Tropfen der Flüssigkeit erhält man dann ungefähr dieselbe Menge Gewebe.

2. Präparieren des Nährbodens. Der beste Nährboden ist das mittelst $^1/_4$ oder $^2/_5$ destillierten Wassers verdünnte Plasma. Wenn ein Gewebe oder eine Kultur mittelst *Ringer*scher Lösung gewaschen worden ist, so tritt nur sehr langsam die Koagulation des Plasmas ein. Man fügt dann Muskelextrakt oder Embryoextrakt hinzu. An Stelle des Plasmas braucht man bei gewissen Versuchen einen Nährboden, der aus 4 Teilen Serum und aus 1 Teil 2%iger Agarlösung besteht.

3. Präparieren der Kulturen. Für das Präparieren der Kulturen bedient man sich *Gabritschewski*-Glasschalen und größerer kreisrunder Glasschalen. Die *Gabritschewski*-Schale besteht bekanntlich aus einem abgeplatteten, kreisrunden Gefäß und einem Deckel. Der Boden der Schale besteht aus einem rinnenförmigen peripherischen Teil, der das zum Feuchthalten der Atmosphäre nötige Wasser enthält, und aus einem zentralen, erhöhten Teil, in welchem die durch die Kultur ausgeschwitzte Flüssigkeit zurückgehalten wird. Der Deckel besteht aus einer kreisrunden Platte aus Glas. Es wird auf dem unteren Gefäß mittelst Vaseline befestigt. Am Rande, an zwei gegenüberliegenden Stellen, ist er mit 2 Löchern versehen. Ebenso befinden sich am oberen Rande der Schale zwei entsprechend große Löcher, und zwar derart angebracht, daß, wenn diese Löcher nicht gegenseitig korrespondieren, die Schale hermetisch geschlossen ist und daß bei entgegengesetzter Stellung der Löcher eine Verbindung mit außen hergestellt ist. Der Nährboden und die Gewebe haften an der unteren Seite des Deckels fest. Sie bedecken eine Oberfläche von 65 *mm* Durchmesser.

Die anderen angewandten kreisförmigen Glasschalen sind viel größer. Sie bestehen aus einem Gefäß und einem Glasdeckel. Das Gefäß enthält eine große *Petri*sche Glasschale, die auf einem Untersatz (Träger) ruht und zur Aufnahme der Kulturflüssigkeiten dient. Der Boden der Schale wird mit Wasser bedeckt. Die Kultur wird direkt auf die untere Seite des Deckels angelegt, wo sie eine kreisrunde Fläche von 15 *cm* Durchmesser einnehmen kann. Soll die Kultur beweglich sein und gewaschen werden können, so legt man sie auf einem seidenen Schleier an, der auf einen viereckigen Glasrahmen gespannt ist. Der Rahmen wird an der unteren Seite des Deckels mittelst etwas Paraffins befestigt. Er kann dann leicht abgenommen werden, und man kann so bequem die Waschung mit *Ringer*scher Lösung in einer Kristallisierschale vornehmen.

Die Kulturschalen werden in einem Trockenkasten sterilisiert. Dann werden sie so präpariert, daß man zunächst die Rinne oder den Boden der betreffenden Schalen mit *Ringer*scher Lösung oder Wasser versieht und ihren oberen Rand mit Vaselin bestreicht. Auf der unteren Seite des Deckels legt man die Gewebe und den Nährboden an.

Mittelst einer weiten Pipette bringt man dann auf die Platte die *Ringer*sche Lösung, welche die Gewebsfragmente enthält, und zwar breitet

man dabei die Flüssigkeit so aus, daß die Teilchen ungefähr gleichmäßig zur Verteilung kommen. Hierauf setzt man 3- oder 4mal mehr Plasma hinzu, als der Lösung, die die Gewebe in Suspension enthält, entspricht. Während Koagulation eintritt, schützt man die Platte gegen Luftstaub. Sobald die Konsistenz des Kulturnährbodens hinreichend ist, legt man die Platte auf die Schale. Sie haftet mittelst der Vaseline fest an.

Um eine Kultur auf Seidenschleier herzustellen, legt man zuerst den Rahmen an die Platte und befestigt ihn mittelst Paraffins. Dann benetzt man die Seide mit *Ringer*scher Lösung oder mit Plasma und bringt nun darauf das Gewebe und den Nährboden in der gewöhnlichen Weise an. Will man nach ein paar Tagen die Kultur waschen, so legt man den Rahmen in kalte *Ringer*sche Lösung. Nach einer Stunde oder nach zwei Stunden nimmt man ihn aus der *Ringer*schen Lösung heraus, bringt ihn auf eine andere Platte, befestigt ihn wieder mittelst Paraffins und bedeckt ihn mit einem neuen Nährboden. In der beschriebenen Weise kann man die Verjüngung der großen Kulturen vornehmen und ihr Leben verlängern. Zu erwähnen ist hierzu noch, daß leider die großen Kulturen den Bazilleninfektionen viel häufiger und in gefährlicherem Maße anheimfallen als die kleinen.

Die Glasschalen werden im Brutschrank bei einer Temperatur belassen, die der Natur der Gewebe, die sie gerade enthalten, angepaßt ist. Das Wachstum der Gewebe geht dort ungefähr in derselben Art vor sich wie bei den kleinen Kulturen im hängenden Tropfen. Man kann die Vermehrung der Gewebe ohne Hilfe eines Mikroskopes beobachten. Nach und nach werden die Umrisse der Fragmente undeutlich, sie erscheinen mehr und mehr unbestimmt und verwischt und zuweilen werden sie von einem opalartigen Hofe umgeben, während sich dabei die Oberfläche des betreffenden Fragments vermehrt. Oft wird von dem Plasma im Niveau der in Entwicklung begriffenen Fragmente etwas Flüssigkeit ausgedunstet. Zu gleicher Zeit wird dabei die Atmosphäre der Glasschale verdünnter. Das Auftreten von Bazillenkolonien erkennt man an ihren kreisrunden Flächen und ihren deutlichen Umrissen.

Die Kulturen der *Gabritschewski*-Glasschalen können leicht mit dem Mikroskop verfolgt werden. Obgleich die Dicke des Deckels den Gebrauch einer starken Vergrößerung nicht erlaubt, kann man trotzdem die Zellen bequem beobachten.

Will man die Kulturen einer eingehenden histologischen Untersuchung unterwerfen, so fixiert man sie, nachdem sie ungefähr 1 Stunde lang in *Ringer*scher Lösung bei einer Temperatur von 0° gewaschen worden sind, in einer isotonischen Kochsalzlösung, die 2% Formalin enthält. Dann färbt man sie, ohne sie von dem Objektträger zu entfernen. Falls aber der Kulturnährboden sehr dick ist, ist es besser, die Kultur daraus wegzunehmen, sie in Teilchen zu zerteilen, in Paraffin einzubetten und dann in Serienschnitten zu zerlegen.

Um die Substanzen zu beobachten, die im Nährboden während des Lebens der Gewebe entstehen, entfernt man die ganze Kultur von der

Platte und saugt mittelst einer Pipette die Flüssigkeit von dem Boden der Glasschale auf. Die Kultur wird in kleine Fragmente zerschnitten, die mit der Flüssigkeit in ein Röhrchen gebracht werden. Nach erfolgtem Zentrifugieren erhält man so viel Flüssigkeit, daß man verschiedene der Produkte, die außerhalb des Organismus entstehen und leben, untersuchen kann.

Die obige Technik erlaubt, ausgedehnte Kulturen unter ziemlich günstigen Bedingungen anzulegen. Sie ist aber bei weitem noch nicht vollkommen. Zweifellos wird sie später noch verbessert werden können.

IV. Auf Grund der ausgearbeiteten Methoden ist es nun gelungen, gewisse Funktionen der außerhalb des Organismus lebenden Gewebe zu studieren.

1. Um festzustellen, ob die in vitro kultivierten Gewebe die Eigenschaft behalten, gegen ein Antigen durch Erzeugung eines Antikörpers zu reagieren, versuchte ich unter Mitarbeit von Herrn *Ragnvald Ingebrigtsen*, Knochenmark und Lymphdrüse von Meerschweinchen gegenüber den roten Blutkörperchen der Ziege hämolytisch zu machen. Mit Hilfe der Ratschläge, die uns für diese Versuche Herr *Hideyo Noguchi* freundlichst gegeben hat, haben wir hierbei sogleich positive Resultate erhalten.

Knochenmark und Fragmente von Lymphknoten vom Meerschweinchen wurden in Plasma vom Meerschweinchen in *Gabritschewski*-Schalen kultiviert. Wir wählten als Antigen Ziegenblut, weil es von dem Meerschweinchenplasma nicht oder sehr wenig hämolysiert wird. Im allgemeinen wurden einer Kultur, die 20 Tropfen Plasma enthielt, 5–6 Tropfen *Ringer*scher Lösung zugefügt, welche die Gewebsfragmente suspendiert enthielt. Zur gleichen Zeit bereiteten wir mit Ziegenblut eine Kontrollkultur ohne Antigen; ferner wurden auch Kontrollkulturen hergestellt, die nur aus Meerschweinchenplasma und Ziegenblut bestanden oder solche aus Meerschweinchenplasma, Ziegenblut und durch Erhitzen abgetötetes Knochenmark. Die *Gabritschewski*-Schalen wurden dann in einem Brutschrank bei 39° aufbewahrt. Nach einigen Stunden waren die Gewebsfragmente mit Zellen umgeben, welche bald in den Nährboden eindrangen. Am zweiten Tage war noch keine Beeinflussung der roten Blutkörperchen der Ziege zu bemerken, jedoch war am dritten Tage bereits lebhafte Phagozytose eingetreten. Am 4. oder 5. Tage wurden die Glasschalen geöffnet. Die gallertartige Plasmamasse wurde zu kleinen Stückchen zerschnitten und dann mit einer Pipette die am Boden der Schale befindliche Flüssigkeit aufgesaugt. Die Flüssigkeit und das Plasma, welche die Gewebe enthielten, wurden in ein Röhrchen gebracht. Wir ließen gefrieren, brachten dann auf gewöhnliche Temperatur zurück und zentrifugierten. Die hämolytische Wirkung der Flüssigkeit wurde zunächst mittelst der *Epstein*schen und *Ottenberg*schen Methode geprüft. Die Eigenschaften der Hämolysine wurden mit den gewöhnlichen Methoden studiert.

Wir fanden, daß der Flüssigkeitsextrakt der Kulturen, die das Ziegenblut enthielten, rote Blutkörperchen der Ziege stark hämolysierte, während die Flüssigkeit der Kontrollkulturen inaktiv war. Es steht also fest, daß

unter dem Einfluß des Antigens in den Kulturen Hämolysine erzeugt wurden. Die Untersuchung der auf diese Weise entstandenen Hämolysine ergab folgendes:

Die Flüssigkeit hämolysierte die roten Blutkörperchen der Ziege ohne Komplementbindung. Erwärmte man sie auf 56° eine halbe Stunde lang, so verlor sie ihre hämolytische Kraft. Nach Komplementbindung war sie wieder fähig, Ziegenblut zu hämolysieren.

Hierauf beließen sie rote Blutkörperchen von Ziegenblut 4 Stunden lang bei 0° in einem Flüssigkeitsextrakt einer 5tägigen Kultur. Nachdem die Blutkörperchen durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit getrennt worden waren, fügten im Serum von Meerschweinchen hinzu. Es trat vollständige Hämolyse ein. Normale Blutkörperchen der Ziege blieben nach Zusatz von Meerschweinchenserum dagegen unverändert. Man konnte ferner feststellen, daß die von den Blutkörperchen durch Zentrifugieren getrennte Flüssigkeit, die dann mit roten Blutkörperchen der Ziege vermischt worden war, ihre hämolytische Kraft fast gänzlich verloren hatte. Aus diesen Beobachtungen geht also hervor, daß die durch die Kulturen erworbene hämolytische Kraft auf Substanzen zurückzuführen ist, die nach Art der natürlichen Hämolysine wirken. Es ist somit auch festgestellt, daß Knochenmark und Fragmente von Lymphdrüsen des Meerschweinchens, die 5 Tage lang mit Ziegenblut kultiviert wurden, Substanzen erzeugen, die den roten Blutkörperchen der Ziege gegenüber hämolytisch wirken.

2. Für das Studium der funktionellen Tätigkeit der im Zustande des manifestierten, permanenten Lebens erhaltenen Gewebe wurden Herzmuskelfragmente gewählt, weil man bei ihnen sehr leicht ihre rhythmischen Kontraktionen beobachten kann.

Im Dezember 1911 fand ich, daß die Pulsschläge eines Herzfragmentes, die sich an Zahl und Intensität vermindert oder überhaupt gänzlich eingestellt hatten, durch eine Waschung und eine Passage zum natürlichen Zustande zurückgeführt werden konnten.

In einer sekundären Kultur schlugen zwei durch einen freien Zwischenraum getrennte Herzfragmente stark und regelmäßig. Das größte Fragment kontrahierte sich 92mal in der Minute und das kleine 120mal. Während 3 Tagen veränderten sich Zahl und Intensität der Pulsationen nur wenig. Am 4. Tage hatten beide beträchtlich abgenommen. Das große Fragment schlug nur 40mal in einer Minute und das kleine Fragment 90mal. Die Kultur wurde nun gewaschen und in einen neuen Nährboden gebracht. Bereits anderthalb Stunden danach war das Pulsieren sehr stark geworden. Das große Fragment kontrahierte sich jetzt 120mal pro Minute und das kleine Fragment 160mal. Zugleich vermehrten sich die Fragmente rasch. Nach Ablauf von 8 Stunden waren sie zu einer Masse vereinigt, von der alle Teile synchron schlugen.

Ich versuchte nun, mehrere Monate hindurch 3 Herzfragmente im Zustande der funktionellen Tätigkeit zu erhalten. Einer dieser 3 Versuche sei hier beschrieben.

Am 17. Januar 1912 wurde ein Herzfragment eines 7tägigen Hühnchenembryos in Plasma gelegt. Bald war es von einer dichten Zone Bindegewebszellen umgeben. Nach einigen Tagen wurde das Pulsieren, das am Anfang regelmäßig und stark war, schwach und verschwand schließlich vollständig. Während mehr als eines Monats blieb das Fragment ganz unbeweglich. Am 29. Februar wurde die Kultur, die 14 Passagen durchgemacht hatte, zerschnitten und das Zentralfragment in einen neuen Nährboden gebracht. Nach dieser 15. Passage stellte sich eine rhythmische Kontraktion ein, und zwar bemerkte man, daß das Pulsieren jetzt ebenso stark und so häufig wie am 17. Januar war. Die Zahl der Pulsschläge belief sich auf 120—130 pro Minute. Während des Märzes und Aprils schlug das kleine Herzfragment kräftig weiter. Da das Wachstum des Bindegewebes immer mehr und mehr zunahm, mußte man vor jeder Passage die Kruste des neuen Gewebes, die sich um den Muskel gebildet hatte, herausschneiden. Am 27. April schlug das Fragment 92mal pro Minute. Die Kontraktionen waren regelmäßig und bewegten die ganze Gewebsmasse samt der benachbarten Teile des Nährbodens. Am 1. Mai wurde das Pulsieren schwächer. Man unterwarf dann die Kultur der 35. Passage. Schließlich wurde leider das Muskelgewebe bei weiterem Präparieren zerrissen. Die rhythmischen Kontraktionen hörten danach definitiv auf.

Resümee. Zusammenfassend ist zu sagen, daß die jüngst angewandte Technik zu den folgenden neuen Resultaten geführt hat:

1. Kulturen von Bindegeweben lebten und wuchsen in vitro noch nach mehr als 130 Tagen.

2. Es ließen sich erfolgreich reine Zellkulturen von einem bestimmten morphologischen Typus herstellen.

3. Es ist möglich geworden, in *Gabritschewski*-Schalen eine solche Menge Gewebe zu kultivieren, daß man die Produkte ihrer Tätigkeit untersuchen kann.

4. Es konnte gezeigt werden, und zwar auf Grund der Erzeugung der Hämolysine in vitro und durch die beobachtete Beständigkeit des Pulsierens eines in vitro seit 104 Tagen lebenden Herzfragments, daß wenigstens in einem gewissen Maße Gewebe außer dem Organismus ihre funktionelle Tätigkeit erhalten können.

Die verschieden angewandten technischen Verfahren sind bei weitem noch nicht vollkommen; jedenfalls wird es gelingen, sie im nächsten Jahre zu verbessern.

Literatur.

Carrel, Rejuvenation of cultures of tissues. Journal of the American Medical Association. 1911. Vol. 57. p. 1611. — *Carrel* and *Ingebrigtsen*, The production of antibodies by tissues living outside of the organism. Journal of Exp. Med. 1912. Vol. **15**. p. 287. — *Carrel*, Technique for cultivating a large quantity of tissues. Journal of Exp. Med. 1912. Vol. **15**. p. 393. — On the permanent life of tissues outside of the organism. Journal of Exp. Med. 1912. Vol. **15**. p. 516. — Pure culture of cells. Journ. of Exp. Med. 1912. — *Pozzi*, Au sujet de la vie manifestié permanente des tissus in vitro. Bulletin de l'Académie de médecine. Paris. Juin 1912.

Die Anlegung der Eckschen Fistel beim Hunde.

Von **F. Fischler**, Heidelberg.

Nachdem in den letzten Jahren sich das Interesse der experimentellen Pathologen wieder der Leber zugewendet hat, ist für das Studium ihrer Funktionen natürlich die Frage ihrer Ausschaltung neuerdings akut geworden. Die Möglichkeit der völligen Ausschaltung der Leber ist auch heute wenigstens beim Säuger noch nicht für längere Zeit möglich. Die Möglichkeit einer weitgehenden funktionellen Ausschaltung ist aber schon seit der ersten Anlegung einer Anastomose zwischen Vena porta und Vena cava durch *v. Eck* 1878 erreicht, bot aber noch immer Schwierigkeiten in der Ausführung. Sie bestanden einmal darin, daß ein besonderes Instrumentarium dafür notwendig war, andrerseits in der Gefahr stärkerer Blutungen. Beides zu vermeiden war mein Bestreben und ich habe im Verein mit *Schröder* 1909 eine einfachere Methode der Anlegung der Venenanastomose angegeben. (Arch. f. exp. Path. u. Ther. Bd. 61, p. 428.)

Im Laufe der Zeit hat sich noch manche kleine Verbesserung ergeben, so daß ich gerne der Aufforderung des Herrn Herausgebers folge und die Methodik, wie sie sich mir jetzt bewährt, mitteile.

Es empfiehlt sich zunächst eine gewisse Auswahl der Tiere. Weibchen sind vor Männchen zu bevorzugen, vor allem aber ist die Thoraxgestalt zu beachten. Fast unbrauchbar sind Tiere mit engen und tiefen Thoraxformen, wie sie am ausgesprochensten die Rasse der Windhunde zeigt. Gut brauchbar sind dagegen Boxer mit ihrem breiten und flachen Thorax. Ferner ist das Tier nicht zu groß zu wählen, da sonst auch bei geeignetem Thorax die Organe an sich tief liegen und so die Ausführung unnötig erschweren. Tiere mit 15—18 *kg* stellen die Grenze der geeigneten Tiere dar. Wichtig ist fernerhin die Lagerung der Tiere. Die Aufspannung erfolge lose; unter das Kreuz der Tiere ist eine Polsterung von Tüchern zu legen, so daß eine ziemlich starke Lendenlordose erzeugt wird.

Ferner lasse man die Tiere wenigstens einen Tag vor der Operation nur Wasser zu sich nehmen. Die Desinfektion erfolge mittelst Seife, Spiritus, 1‰ Sublimat und Tinctura Jodi, nachdem vorher ausgedehnt Brust und Bauch sorgfältig rasiert sind.

Falls man sicher gehen will, daß die Tiere nicht infolge der Operation an zentralen Lebernekrosen zugrunde gehen können, empfiehlt es sich, sie vorher im Abstand von je 2 Tagen mit 1·0 Trypsin *(Grübler)* in 50 *cm*³ 0·9⁰/₀iger NaCl-Lösung zu immunisieren, wodurch sie gegen die oft unvermeidlichen Pankreasfettgewebsnekrosen widerstandsfähiger werden. Die Einspritzung von Trypsin erfolge subkutan unter Novokainanästhesie. Es genügen 4 Injektionen.

Als Narkose empfiehlt sich Morphium-Äther und Morphium-Chloroform. Der Operateur steht auf der rechten Seite des Tieres.

Die Ausführung der eigentlichen Operation gestaltet sich folgendermaßen: Der Hautschnitt beginnt am Processus xiphoideus, zuerst 1—3 *cm* median, dann dem Rippenbogen folgend nach rechts umbiegend zirka 10—14 *cm* nach abwärts. Die Fascie und Muskulatur wird in gleicher Richtung durchtrennt. Dann geht man etwas mehr median durch die Fascie des Musculus transversus und ist in der Bauchhöhle. Blutende Gefäße sind sorgfältig zu ligieren, damit die Übersicht nicht gestört werde.

Nun wird Magen, Duodenum und Dünndarm nach links geschoben, aber nicht vorgelagert, alle Intestina bleiben während der ganzen Dauer der Operation in der Leibeshöhle.

Wichtig ist der Schutz des Pankreas, das möglichst wenig gequetscht werden darf, da sonst unvermeidlich Fettgewebsnekrosen eintreten, welche die so gefürchtete zentrale Läppchennekrose in der Leber verursachen und damit den Tod der Tiere. Daher ist es unbedingt nötig, daß das Pankreas durch feuchte Tupfer in dicker Lage bedeckt und ohne Druck zurückgehalten wird. Es empfiehlt sich, auch die Leber in derselben Weise zu schützen, weil man sonst durch die Fingernägel der linken Hand das weiche Lebergewebe einreißen kann. Der Assistent hat nur die Pflicht, Intestina und Pankreas zurückzuhalten, im übrigen seine eingenommene Stellung so wenig wie möglich zu verändern, da sonst nur das Operationsfeld geändert wird, was für den Operateur stets ein neues Gesichtsfeld und eine veränderte Lage der Gefäße bedingt. Richtig ist das Gesichtsfeld dann, wenn die Vena port. in ihrem ganzen Verlauf die linke Seite des Gesichtsfeldes einnimmt, die Vena cava inf. die rechte Hälfte. Außer geringen Teilen des umgebenden perivaskulären Gewebes soll sonst nichts mehr zu sehen sein.

Nun erfolgt die Umführung eines mittleren Seidenfadens oberhalb der Einmündung der Vena pancreatico-duodenalis um die Vena port. Man suche diese genau auf, präpariere stumpf die Vene etwas heraus und führe dann den Faden von 40—50 *cm* Länge unter ihr durch ohne zu knüpfen und lege die Enden an einen Péan fest (s. Fig. 163). Auch bei der Umführung hat man sehr darauf zu achten, daß das Pankreas nicht verletzt wird. Im perivaskulären Gewebe verlaufen Lymphgefäße und einige ganz kleine Venen, die nicht ausgeschaltet zu werden brauchen, die Lymphgefäße schont man am besten.

Nun erfolgt ebenfalls stumpf die weitere Freilegung der Vena portarum von umgebendem Bindegewebe. Regelmäßig findet sich an ihrer

lateralen Seite eine ziemlich große Lymphdrüse, die von der Wand abgelöst und nach hinten verschoben wird. Sie hat zahlreiche Lymphverbindungen zur Leber, zum Duodenum und zum Pankreaskopf.

Die Vena cava braucht gewöhnlich nicht von Bindegewebe befreit zu werden, da sie nur selten davon umscheidet ist. Zwischen Vena cava und port. tritt nach Lockerung ihrer Umhüllungen jetzt nicht selten die Leberarterie und ein Teil des Pankreas durch. Diese Gebilde lassen sich aber leicht durch einen mit einem Tupfer bewaffneten Péan zurückhalten. Auch hier hüte man sich vor jeder Gewaltanwendung.

Nun beginnt die Naht. Es gilt die beiden Venen auf eine Länge von mindestens 2·5 *cm* so zu vereinigen, daß die dadurch gebildete hintere Wand der Anastomosenstelle völlig dicht gegen den später an sie andringenden Blutstrom ist. Man beginnt möglichst hoch oben mit der ersten Nadel.

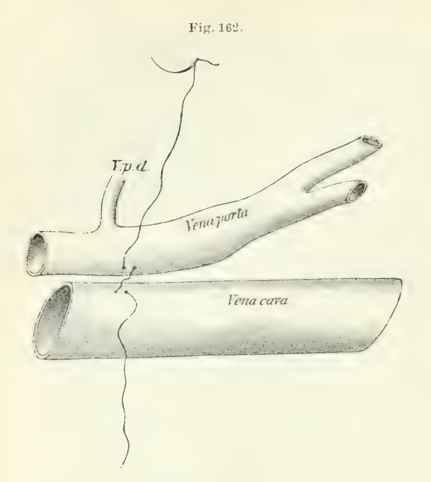
Zunächst aber noch einige Worte über Naht und Nadeln sowie Nahtmaterial. Ich verwende zur Gefäßnaht sog. Augennadeln feinster Nummer, die in jedem Instrumentengeschäft vorrätig sind. Die Nadeln sind 1·0 *cm* lang von Spitze zum Ende direkt gemessen und sind halbkreisförmig gebogen. Sie tragen das bekannte Patentöhr. Das Nahtmaterial ist Seide Nr. 00. Die Nadel darf keine Roststellen zeigen, weil sie sonst nicht leicht genug die Gefäßwand passiert. Die Nadel kann mit jedem etwas längeren Péan gefaßt werden, oder mit einem Nadelhalter (am besten dem *Sims*schen), dessen Enden etwas spitz abgeschliffen sind. Die Seide darf nicht in Sodalösung sterilisiert werden, sondern muß in physiologischer Kochsalzlösung ausgekocht sein, sie wird sonst brüchig.

Beim Nähen beachte man, daß man stets zuerst durch die Wand der Vena cava geht. Ich sage mit Absicht durch die Wand, da es nicht nötig ist, sich mit Nähten in der Wand abzuquälen, die bei der Cava zwar gelingen, bei der Porta aber nur in Ausnahmefällen. Der Beginn bei der Cava hat den Vorzug, daß man einer etwa entstehenden Blutung eher Herr wird, als bei der Porta, und daß die Cava den Zug des Seidenfadens eher ohne zu reißen aushält, als die bei weitem zartere Wand der Porta.

Im allgemeinen empfiehlt es sich, die Nadel auf ca. 1—2 *mm* durch die Wand durchzuführen, nicht auf eine kürzere Strecke, die Venenwände werden auf diese Art sicherer aufeinandergepreßt und sind so dichter gegen den Blutstrom. Auch ist es aus demselben Grund ratsamer — übrigens auch bequemer — stets in der gleichen Richtung, also von unten nach oben, die Gefäße zu durchbohren, wobei (s. Fig. 162) die ganze Länge der Nahtstelle über Kreuz aufeinandergepreßt ist. Eine Verzerrung der Lage der Gefäße ist bei der Kürze der in Betracht kommenden Strecken nicht zu befürchten. Man hat aber außerdem den bedeutenden Vorteil, daß man mit einer geringeren Zahl von Nähten auskommt und damit die ganze Operation abkürzt. Das Knüpfen der Fäden geschieht durch einen einfachen Knoten, die Fadenenden sind möglichst kurz abzuschneiden.

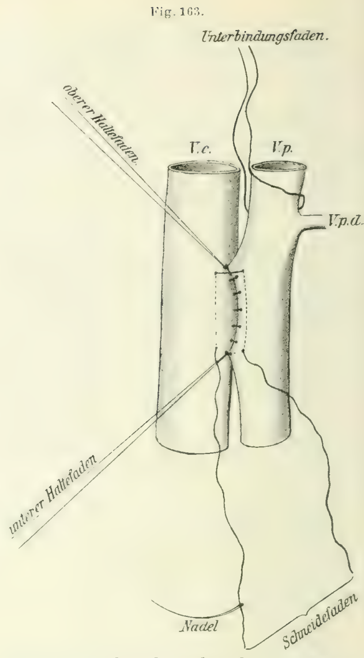
Nur der erste und letzte Faden bilden davon eine Ausnahme. Der Seidenfaden der ersten Naht muß etwas länger sein, ca. 40—50 *cm*, als

Fig. 162.



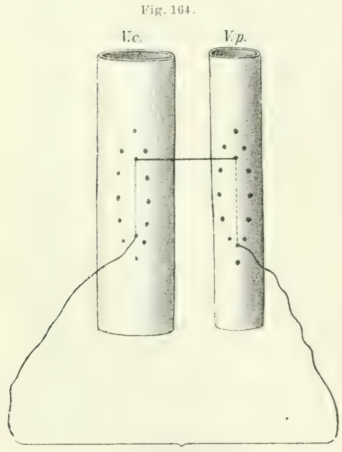
Zeigt, wie die erste Nadel zwischen Vena cava und Vena port. gelegt wird.

Fig. 163.



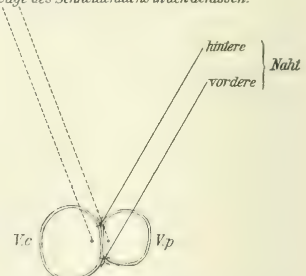
Zeigt die Vollendung der Bildung der hinteren Anastomosenwand und die Durchführung und Lage des Schneidefadens, die innerhalb des Gefäßes durch die punktierten Linien angedeutet ist. (Auch in der folgenden Figur.)

Fig. 164.



Zeigt die Nahtstellen der hinteren und vorderen Anastomosenwand — das Oval — sowie die Lage des Schneidefadens dazwischen. Das Bild ist ein gedachtes und ideell nach Vollendung der ganzen Naht auseinandergenommen.

Fig. 165.



Zeigt einen Querschnitt durch die Mitte der künftigen Anastomose nach vollendeter Naht. Der Schneidefaden hat noch nicht durchgesägt und liegt im Lumen beider Gefäße.

die zu den Situationsnähten gebrauchten Fäden, da er als Haltefaden dient. Er wird an einen Péan festgelegt und in der Nähe des Ligaturfadens für die Vena port. vorläufig untergebracht. Er liegt dicht unterhalb desselben. Wichtig ist nun bei der Anlegung der hinteren Wand der Anastomosenstelle, daß man weit genug nach hinten (sagittal gedacht) die Nähte anlegt, damit man genügend Platz respektive Venenwandung für die Anlegung der vorderen Wand erübrigt. Weiter ist darauf aufmerksam zu machen, daß die Wand einen leicht nach hinten konvexen Bogen machen soll (s. Fig. 163 und 164).

Hat man nun die hintere Wand bis auf den letzten Faden gelegt, so nehme man diesen ebenfalls etwas länger und schneide ihn nicht ab, da er als unterer Haltefaden dient und lege seine Enden an eine Klemme.

Ich habe noch zu bemerken, daß ich stets Kopfnähte lege, weil bei irgend welchen Zufällen eine fortlaufende Naht viel schwerer zu korrigieren ist, auch die Zugfestigkeit der Venenwände andauernder beansprucht wird, als bei Kopfnähten, die allerdings den Nachteil größeren Zeitaufwandes erfordern, aber sicherer sind.

Man überzeuge sich von der Dichtheit der hinteren Wand der Anastomose, bevor man in der Operation weiterschreitet, dadurch, daß man mittelst eines Suchers zwischen die Nahtstellen einzudringen sucht, was nicht gelingen darf. Ist alles in Ordnung, so kann jetzt der Schneidefaden gelegt werden.

Man nimmt von demselben Seidenfaden Nr. 00, den man bisher zur Anlegung der Knopfnähte benützt hat, und armiert eine flachgebogene Darmnadel (rund) mit ca. 1·20 *m* Seidenfaden. Man überzeuge sich besonders, daß ja kein Knoten daran ist. Die Nadel muß über 2 *cm* lang sein, am besten 2·5 *cm*.

Es gilt, die Nadel nun so in die Gefäße einzuführen, daß der Faden nachher an korrespondierenden Stellen innerhalb beider Gefäße liegt, um dort später beim Durchsägen der Wände die Anastomosenöffnung zu bewirken. Man verfährt so, daß man nahe dem unteren Haltefaden die Nadel, welche den Schneidefaden trägt, in die Vena port. einsticht und nun ca. 1·5—2 *cm* im Lumen des Gefäßes nach oben führt, um sie nahe dem oberen Haltefaden wieder aus dem Gefäß auszustechen und sofort den Faden ungefähr zur Hälfte seiner Länge nachzuziehen. Man legt sofort eine leichte Kompresse auf, da regelmäßig hierbei eine kleine Blutung erfolgt. Man muß beim Nachziehen des Fadens, wie auch beim Durchstechen der Nadel äußerst behutsam zu Werke gehen, damit die zarte Gefäßwand nicht eingerissen wird, was eine unter Umständen unstillbare Blutung zur Folge hat. Unter normalen Verhältnissen passiert dies aber nicht, sondern man erlebt nur den Austritt weniger Bluttropfen. Man entfernt nun die Kompresse, tupft die ganze Stelle mit einem feuchten Tupfer ab, um eine genaue Übersicht zu haben, merkt sich nun an der Vena cava diejenigen Stellen, welche der Ein- und Austrittsstelle des Schneidefadens an der Vena portarum entsprechen und sticht nun dieselbe

Nadel, welche den Schneidefaden trägt, zuerst nahe dem oberen Haltefaden in die Vena cava ein, führt sie im Lumen des Gefäßes nach abwärts bis nahe dem unteren Haltefaden und sticht an der Stelle aus, welche der Einstichstelle des Schneidefadens in die Vena port. korrespondiert. Nun zieht man sofort den Faden soweit nach, bis er sich zwischen den beiden Gefäßen spannt und legt die Enden an einer Klemme fest. Es ragen dann ca. 50 *cm* Fadenenden aus der Vena cava und port. vor. Ich mache darauf aufmerksam, daß es nötig ist, die Einführung des Schneidefadens genau so zu befolgen und ihn immer zuerst in die Vena port. einzuführen, da die Fortführung der Nadel im Lumen des Gefäßes von unten nach oben viel leichter ist, als in der umgekehrten Richtung, wobei man auch bei günstigen anatomischen Verhältnissen gelegentlich etwas Gewalt anwendet, die die Vena cava viel leichter erträgt, als die Vena portae. Man mache sich das Manöver der Durchführung der Nadel durch die Cava zuerst als Scheinmanöver vor, damit man die Nadel im Halter richtig befestigt. Die Lage des Schneidefadens zeigt Fig. 163, 164, 165.

Nun hat man nur nötig, die vordere Wand der künftigen Anastomosenstelle zu bilden, um dann vermittelst Durchsägung der beiden Venenwände und durch Abbinden der Vena port. den Blutstrom der Leber in die Vena cava ableiten zu können.

Bei der Bildung der vorderen Anastomosenwand hat man achtzugeben, daß man außerhalb des Bereiches des in den beiden Gefäßen gespannten Schneidefadens bleibt. Man sticht daher ziemlich weit außerhalb seiner oberen Lage ein und führt die erste Nadel, welche die Bildung der vorderen Anastomosenwand beginnen soll, bis unmittelbar an den Knüpfpunkt des oberen Haltefadens heran und verfährt in umgekehrter Richtung korrespondierend in der Vena port. Dann knüpft man und bittet den Assistenten — der bis jetzt absolut ruhig gehalten hat — in diesem Moment etwas mit dem Zurückhalten der linken Seite nachzulassen, weil jetzt die Spannung durch das Knüpfen recht stark wird. Sofort nach Anlegung dieser Naht bildet sich eine Art Rinne zwischen den beiden Gefäßen, in deren Mitte der Schneidefaden liegt. Man näht nun auf der Kuppe dieser Rinne entlang bis nahe der unteren Begrenzung des Anastomosenfeldes. Es empfiehlt sich, den untersten Faden ganz analog dem Vorgehen, wie ich es für den obersten geschildert habe, anzulegen, damit die Abdichtung nach unten eine möglichst vollkommene werde, denn gerade dort pflegen eventuell Blutungen aufzutreten. Wenn man nun der Meinung ist, daß alles in gehöriger Weise genäht ist, so prüft man wiederum mit einem Sucher die zwischen den Nähten liegenden Stellen auf ihre Dichtheit und geht dann zu der Durchschneidung der Venenwände über.

Jetzt treten die Haltefäden in Aktion. Es gilt die Stelle zu durchsägen und dazu muß sie in Spannung sein; man läßt also am oberen Haltefaden, sowie am unteren durch Assistenten oder mangels derer durch Beschwerung der Haltefäden mittelst Instrumenten einen leichten Zug ausüben, wodurch die Anastomosenstelle gespannt wird. Nun nimmt man

die Enden des Schneidefadens in je eine Hand, nachdem man sie vorher sorgfältig entwirrt hat, so daß sie nicht mehr umeinander gedreht sind, wickelt die Enden um die Zeigefinger und fängt an, sägende Bewegungen zu machen. Dabei übt man einen gewissen Druck aus, so daß der Faden nun scharf gespannt ist und schneidet. Man säge in großen Zügen und sei nicht ängstlich, der Faden reißt nicht, so lange er schneidet. Selbst sehr derbe Venenwände werden so glatt durchschnitten. Ich habe früher angegeben, man solle die Venenwand vorher mit einem feinen Messerchen einritzen; das ist nicht nötig, ich habe gelernt, daß man mit großen Sägezügen noch ganz andere Gewebe durchschneiden kann, ohne daß der Faden reißt. In den meisten Fällen genügt es, nur wenige Male hin und her zu sägen und der Faden hat durchgeschnitten, man hat ihn ganz in der Hand. Das ist eben der große Vorzug der Methode, daß man ohne jeden Apparat die Durchschneidung machen kann und dabei jede Blutung vermeidet. Der feine Faden zieht sich ohne jede Schwierigkeit zwischen den Nahtstellen durch und verursacht nirgends Dehiszenzen, die dann zu Blutungen führen könnten.

Nun hat man nur noch die Vena port. abzubinden und die *Eck*sche Fistel ist vollendet. Das ist einfach genug und bedarf keiner speziellen Erläuterung. Nach Anlegung der Portaligatur darf keine Stauung in den Darmvenen auftreten, sonst ist etwas falsch.

Dann folgt Bauchnaht in 4 Etagen und später täglicher Verband. Am ersten Tage nach der Operation erhalten die Tiere nur Wasser, am zweiten etwas Reis und Milch, bei glatter Heilung kann schon vom dritten Tage an Fleisch gegeben werden.

Die Fäden sind zwischen dem 4.—7. Tage zu entfernen, das Tier einige Tage länger zu verbinden.

Es ist nun noch nötig, über Komplikationen ein Wort hinzuzufügen. Vor allem über etwaige Blutungen. Durch eine tiefe Respiration der Tiere oder durch Erwachen aus der Narkose mit Bewegungen kann es sich ereignen, daß ein Situationsfaden einmal einreißt: es erfolgt sofort eine heftige Blutung, auch aus sehr kleinen Venenrissen. Wer so eine quellende Blutung einmal gesehen hat, wo im Nu das ganze Gesichtsfeld ein Blutsee ist, der hat erst eine richtige Vorstellung über die Menge Blut, die durch die Porta gehen muß. Jede arterielle Blutung ist angenehmer, da sie wenigstens in Intervallen stärker und schwächer wird.

Bei der Portablutung aber — und um solche handelt es sich fast ausschließlich — ist einfach eine Quelle offen. Da hilft nur sofortige Tamponade mit Tupfern, die man unbedenklich fest andrücken darf. Dann suche man durch sehr sorgsames Aufdecken derselben den Herd der Blutung zu finden: sowie man ihn hat, ist es am besten, den Zeigefinger der linken Hand auf die blutende Stelle als Tampon aufzusetzen und nun in aller Ruhe erst das Blut aufzutupfen, damit man wieder freies Gesichtsfeld bekommt. Dann nehme man einen Péan und fasse die Stelle unter dem Finger. Hier ist Geschwindigkeit alles. Es gelingt aber meist leicht,

die blutende Stelle zu fassen. Dann näht man unmittelbar ober- und unterhalb des Péans die beiden Venenwände zusammen, läßt die Fadenenden lang, lockert den Péan, ohne ihn zu entfernen, schlingt die Fadenenden zum geschürzten Knoten, entfernt nun den Péan rasch und knüpft den geschürzten Knoten. In den meisten Fällen wird man so die Blutung beherrschen können. Mindestens wird sie durch diese Maßnahmen so verringert, daß man jetzt ruhig eine zweite Naht legen kann. Kommt man so nicht zum Ziel, so rate ich zu lange fortgesetzter Tamponade, die vielfach zum Ziele führen wird, dadurch, daß sie die Blutung kleiner macht und man dann in der angegebenen Weise verfahren kann. Blutet es an 2 Stellen, so läßt man eine durch einen Assistenten tamponieren und erledigt inzwischen die andere. Ich habe durch Blutungen im letzten Jahre überhaupt keinen Verlust mehr gehabt.

Falls Stauung nach der Ligatur der Vena port. auftreten sollte, so massiert man die Anastomosenstelle. Es gelingt häufig, damit die Stauung zu beseitigen, die vielleicht durch nicht ganz korrespondierende Durchsägung der Venenwände das anfängliche Einströmen der Blutmengen verhindert hat. Wenn das Hindernis aber beseitigt ist, so funktioniert die Anastomose tadellos.

Besonders sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Anastomosenstelle ca. 1·5—2 *cm* groß sein muß, da sie erfahrungsmäßig narbig schrumpft.

Technik und Anwendungsweise der Überdruckoperationen.

Von **R. von den Velden** (Düsseldorf).

Die normale wie pathologische und pharmakologisch-experimentelle Physiologie benötigt Versuchsanordnungen, die an den zum Experiment herangezogenen Organen, resp. Organsystemen keine abnormen Versuchsbedingungen schaffen. Dieser selbstverständlich klingende Hauptsatz jeder Versuchsanordnung gilt ganz besonders für das Studium der Verhältnisse an den Thoraxinnenorganen, also am Respirations- und Zirkulationstraktus. Zur Feststellung grober Tatsachen schien früher die Vernachlässigung der durch die künstliche Respiration, bei geschlossenem oder offenem Thorax, mit oder ohne gleichzeitige Lähmung der Atemmuskulatur, geschaffenen abnormen Verhältnisse von geringerer Bedeutung zu sein. Nicht allein feinere Einzelheiten sind jedoch hierdurch verloren gegangen, sondern es haben sowohl die künstliche Atmung bei geschlossenem Thorax, wie auch die Folgen des doppelseitigen oder auch des ausgedehnten einseitigen Pneumothorax zu manchen falschen Resultaten und Trugschlüssen geführt. Es ist deshalb für diese, den Gesetzen des *Donders*schen Drucks unterworfenen und damit in ihrer Funktion von diesen Druckverhältnissen abhängigen Organen eine Versuchsanordnung notwendig, die diese normalen Verhältnisse nach Möglichkeit bestehen läßt. Nachdem von *Sauerbruch*[1]) das Druckdifferenzverfahren in die praktische Chirurgie eingeführt worden ist, hat sich auch der Experimentator der Vorteile dieser Methodik bedient und heute wendet man das Druckdifferenzverfahren zur Ausschaltung der schädlichen Folgen des Pneumothorax sowohl in akuten wie in chronischen Tierversuchen an; d. h. in akuten Versuchen dort, wo man zur Untersuchung der verschiedenen Kreislaufverhältnisse einen normalen Spannungszustand der Lungen usw. braucht, und in chronischen Fällen dann, wenn an Kreislauf oder Respirationstraktus durch einen operativen Eingriff Verhältnisse zu schaffen sind, die längerer Beobachtung

[1]) *Sauerbruch*, Zentralbl. f. Chir. 31. S. 146 (1904) u. Mitteil. aus d. Grenzgebieten d. Med. u. Chir. XIII. S. 399 (1904).

nach Schluß der Operationswunde am Brustkorb dienen sollen. Gerade letztere Kategorie experimenteller Arbeiten bedarf dieser Methodik besonders.

Zur Geschichte des Druckdifferenzverfahrens sei nur kurz erwähnt, daß die erste Mitteilung im Jahre 1904 von *Sauerbruch*[1]) gemacht wurde: „Über eine Methode zur Ausschaltung der Folgen des offenen operativen Pneumothorax." Seine ursprünglichen Angaben bezogen sich auf das Unterdruckverfahren, während später von *Brauer*[2]) besonders das Überdruckverfahren ausgearbeitet und für die Praxis verwertbar gemacht wurde. Die verschiedenen Apparaturen haben manche Änderungen erfahren. Das Prinzip ist das gleiche geblieben. Für die tierexperimentellen, hier allein in Betracht kommenden Untersuchungen sind die benötigten Apparate bedeutend einfacher zu gestalten, wie für die Operation am Menschen.

Das Prinzip des ganzen Druckdifferenzverfahrens besteht darin, künstlich die normale Druckdifferenz zwischen dem auf der Lungenoberfläche und dem im Lungeninnenraum herrschenden Druck herzustellen. Normalerweise wird die Lunge dadurch gebläht gehalten, daß der Druck, der auf ihrer Innenwand ruht, größer ist, wie der auf der Oberfläche lastende. Diese Differenz beträgt etwa 7 *mm* Quecksilber. Läßt man auf die Lungenoberfläche den gleichen Druck einwirken, wie auf den Innenraum, indem man z. B. einen Teil der Brustwand entfernt, so fällt die Lunge bekanntlich zusammen. Es treten dann nicht nur beim doppelseitigen, sondern sehr oft auch infolge des nachgiebigen Mediastinum usw. bei dem einseitigen Pneumothorax zunehmende Erstickung mit entsprechenden allgemeinen Erregungszuständen, starken typischen Atemstörungen, schlechter Versorgung des Herzens mit Blut, damit Erstickung des ganzen Organismus und schließlich Herzstillstand ein. Stellt man jedoch die Druckdifferenz von zirka 7 *mm* Hg wieder her, so bleiben diese unangenehmen Folgezustände aus, resp. können, wenn sie schon im Entstehen begriffen sind, wieder aufgehoben werden. Diesen normalen Blähungszustand bei offenem Brustkorb erreicht man mit dem Unterdruckverfahren dadurch, daß man das ganze Versuchstier bis auf den Kopf, oder was noch „physiologischer" ist, nur den eröffneten Brustkorb in eine luftdicht abgeschlossene Unterdruckkammer bringt, in der eine Luftverdünnung von etwa 8 *mm* Hg besteht. Der Kopf und damit die in die Lunge strömende Luft stehen unter dem normalen Atmosphärendruck, so daß hierdurch die normale Druckdifferenz wieder hergestellt wird. In der umgekehrten Weise kann man diese Druckdifferenz mit dem sogenannten Überdruckverfahren dadurch erreichen, daß man den gewöhnlichen Atmosphärendruck nach der Thoraxeröffnung auf die Lungenoberfläche einwirken läßt, dagegen den Kopf resp. die luftzuführenden Wege unter Überdruck setzt, und zwar entsprechend auch unter einem Überdruck von zirka 8 *mm* Hg.

[1]) *Sauerbruch,* Zentralbl. f. Chir. 31. S. 146 (1904) u. Mitteil. aus d. Grenzgebieten d. Med. u. Chir. XIII. S. 399 (1904).

[2]) *Brauer,* Mitteil. aus d. Grenzgebieten d. Med. u. Chir. XIII. S. 483 (1904) und Deutsche med. Wochenschr. 31. S. 1489 (1905).

Die einfache Überlegung über die Verteilung und lokale Einwirkung dieser verdichteten resp. verdünnten Luft auf die verschiedenen Partien der Lungeninnen- und Oberfläche mußte schon lehren, daß diese beiden Verfahren nicht als vollkommen gleichwertig betrachtet werden können. *Sauerbruch*[1]) wie *Tiegel*[2]) haben diese Differenz schon früher betont, die auch von *Cloëtta*[3]) in einer neueren Arbeit wieder experimentell bestätigt wurde. Die Erfahrungen beim Menschen, ebenso wie die weitere experimentelle Bearbeitung am Tier, besonders durch *Dreyer* und *Spannaus*[4]) haben jedoch gezeigt, daß zwischen dem Über- und Unterdruckverfahren unter **praktischen** Gesichtspunkten eine irgendwie erhebliche Differenz nicht besteht. Es ist diese Feststellung deswegen von Wichtigkeit, weil die Überdruckapparatur für das Laboratorium bedeutend einfacher zu beschaffen und leichter zu handhaben ist wie das Unterdruckverfahren, das einer Kammer usw. bedarf. Auch gestattet die Überdruckapparatur ein bedeutend leichteres operatives Arbeiten am Tier. Immerhin scheint für ganz bestimmte Eingriffe am Tier nach den Erfahrungen von *Sauerbruch* und *Robinson*[5]) dem Unterdruckverfahren der Vorzug zu geben sein, worauf weiter unten noch zurückgekommen werden soll.

Folgende allgemeinen Grundsätze gelten für die Anwendung der Überdruckapparatur im Tierversuch:

Eine geschulte Assistenz zum Halten des Tierkopfes, zur Regulation der Druckverhältnisse im Apparat, Beobachtung der Lungen, Einschaltung der Narkose usw. ist zur sachgemäßen Durchführung der Druckdifferenz unbedingt nötig. Die Druckluft, die das mit nicht zu engen Röhren versehene System durchströmen soll, ist am besten aus einem Blasebalg, der einen konstanten, keinen unterbrochenen, und natürlich auch keinen in- und exspiratorischen Luftstrom abgeben darf, oder einem Wasserstrahlpumpengebläse zu entnehmen. Die oft beliebte Form der Druckluftzuführung aus einer Sauerstoffbombe schafft auf der einen Seite durch die Herstellung der sogenannten Sauerstoff-Apnoe, andrerseits durch den von *A. Schmidt* und seinen Schülern nachgewiesenen starken Reiz auf das Alveolarepithel (Entzündungserscheinungen usw.) abnorme Verhältnisse und ist deswegen am besten zu unterlassen. Die zugeführte Luft sollte nach Möglichkeit vorgewärmt sein und am besten schon auf der Zufuhrseite durch einen großen Windkessel gehen, damit bei wechselnden Entnahmegrößen stärkere Druckschwankungen vermieden werden. In der gleichen Weise kann man auf der Abfuhrseite zur Regulierung dieser plötzlichen Schwankungen in Form eines Kessels oder eines Gummiballons eine derartige Sicherheitsvorrichtung ev. mit fein ansprechendem Überlaufventil einfügen. Die in

[1]) S. die neueste Zusammenfassung in den Ergeb. der Chirurgie. Bd. 1 (1910), von *Sauerbruch*. S. 356.

[2]) *Tiegel*, Beitr. z. klin. Chirurgie. Bd. **76**. S. 160 (1911). Bd. **79**. S. 683 (1912).

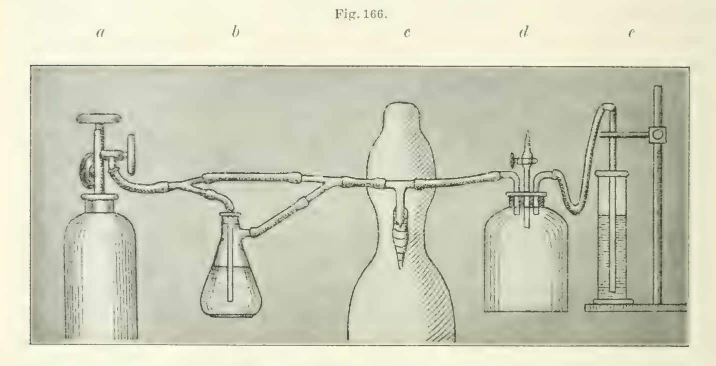
[3]) *Cloëtta*, Verhandlung. d. Deutschen Kongr. f. Chir. II. S. 96 (1912).

[4]) *Dreyer* und *Spannaus*, Beitr. z. klin. Chir. Bd. **60**. S. 110 (1908). Bd. **65**. S. 122 (1909). Bd. **77**. S. 549 (1912).

[5]) *Sauerbruch* und *Robinson*, Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. **102**. S. 542 (1912).

dem ganzen System benötigte Druckhöhe von mehreren Millimetern Hg erreicht man dadurch, daß man das Ausflußrohr unter Wasser in einem mit Zentimetereinteilung versehenen Glaszylinder münden läßt und an einem Stativ in der jeweils benötigten Einstellungshöhe fixiert. Die Höhe der Einstellung ist nach Tierspezies, Größe des Tieres usw. vor allem nach der Art des experimentellen Vorgehens ganz verschieden, worauf weiter unten im einzelnen noch eingegangen wird. Zu warnen ist vor der Verwendung zu hoher Werte, die das rechte Herz stark belasten und das Blut in den großen Venen stauen; mittlere Druckwerte genügen, worüber nicht nur die Inspektion, sondern ein in das Drucksystem im Nebenschluß eingefügtes Wasser- oder Hg-Manometer schnell orientieren kann.

Fig. 166.



Versuchsanordnung nach *Brauer*.

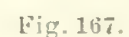
Wenn nicht besondere Kontraindikationen vorliegen, beginnt man die Narkose des Tieres mit Morphium bei Hunden, leichter Äthernarkose bei Katzen oder Urethan bei Kaninchen, bindet die Tiere dann auf und kann die weitere Narkose in der gleich im einzelnen zu schildernden Weise durch Nebenschluß mit Äther usw. im Überdruckapparat weiter durchführen, wozu auffallend geringe Dosen genügen. Von Wichtigkeit ist auf alle Fälle eine gute tiefe Narkose, damit nicht die sehr störende und ungünstige „Preßatmung" auftritt.

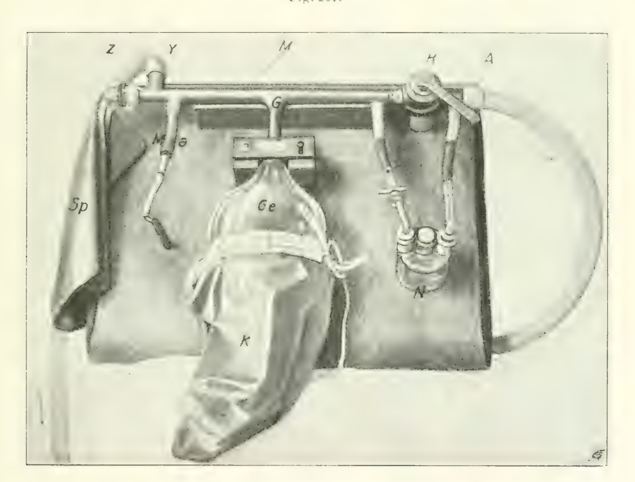
Handelt es sich nur um einen akuten Versuch, den das Tier nicht zu überleben braucht, so ist die Zufuhr der Druckluft in der in Fig. 166 geschilderten Weise mittelst einer Trachealkanüle das einfachste, überall leicht einrichtbare Vorgehen. Nur ist auch hier zu bedenken, daß man, besonders bei größeren Tieren, keine zu engen Röhren wählt und auch an irgend einer Stelle des Systems einen größeren Ballon zur Vermeidung von Druckschwankungen einfügt.

Die Druckluft entstammt einer Sauerstoffbombe *(a)*. Sie kann entweder direkt durch das T-Rohr in die Trachea des Tieres *(c)* überführt oder erst noch durch das

mit einem Narkotikum gefüllte Gefäß *(b)* hindurch geleitet werden. Auf der Abfuhrseite ist eine Flasche *(d)* eingefügt, um größeren Druckschwankungen vorzubeugen. Das System endet in dem Standzylinder *e* unter Wasser.

Will man aus irgend einem Grunde keine Trachealkanüle einlegen oder soll das Tier nach der Operation leben bleiben, so stehen zwei Arten von Apparaten zur Verfügung, um in den Lungen Überdruck zustande zu bringen: zunächst solche, die den Kopf des Tieres vollkommen mit Hilfe einer luftdichten Kappe und eines aus Blech oder Glas hergestellten Kastens einschließen oder andere, die nur maulkorbartig eine kleine Maske über Nase und Mund stülpen. Im Prinzip ähnlich ist ein weiteres Vorgehen, das am Schluß noch Erwähnung finden soll und das in Form der peroralen Intubation oder Trachealinsufflation mit Hilfe eines in die


Fig. 167.



Überdruckapparat für Tieroperationen nach *von den Velden*.

Trachea eingeführten Katheters usw. ebenfalls einen Überdruck in den Lungen erzeugt.

Zur Illustration einer Apparatur, die im ersteren Sinne wirkt, sei hier die *von den Velden*sche[1]) Laboratoriumsapparatur zur Vornahme von Überdruckoperationen am Tier kurz beschrieben.

Der ganze Apparat[2]) ist auf einem massiven Holzbrett von der Größe 55×45 *cm* montiert und kann auf jeden Tieroperationstisch usw. gestellt werden. An der Rück-

[1]) Zeitschr. f. biol. Techn. u. Meth. II. 1. S. 1 (1910).

[2]) Der Apparat wird von der Firma *O. E. Kobe*-Marburg a. L. für den Preis von ca. 35 Mk. zusammengestellt.

seite findet sich ein starkes Messingrohr *M* von der lichten Weite 2·0 *cm*. In dieses Rohr ist eingefügt *H* ein einfacher, mit einem Schlüssel zu bedienender Hahn, der entweder die Passage durch das Rohr freiläßt oder sie vollständig versperrt. Natürlich sind auch Mittelstellungen möglich. — Bei *A* mündet in das Messingrohr durch einen Gummischlauch die Luftzufuhr, die aus einem Atmungsapparat, einem Gebläse u. a. m. entnommen werden kann. Bei *Z*, am entgegengesetzten Ende des Messingrohrs, ist ein aus Gummituch dargestellter „Sparbeutel“ *Sp* angefügt, der die Druckschwankungen im System dämpfen soll. Neben der Öffnung *Z* zeigt die Öffnung *Y* den Weg, wo durch den angeschlossenen Gummischlauch die Luft aus dem System ihren Abweg nimmt. Der Schlauch endet am besten in ein entsprechend weites Glasrohr, das an seinem unteren Ende etwas erweitert ist und in ein Standgefäß mit Wasser hineintaucht. Dieses Glasrohr wird an einem Stativ fixiert, um bequem verschieden tief, je nach dem Bedürfnis des Überdrucks, in das Wasser hineingetaucht werden zu können. In der Mitte des Messingrohres findet sich eine Abzweigung *G*, die durch einen einfachen Querbalken fixiert, mittelst eines Gummistopfens luftdicht in die Glasglocke *Gl* eingefügt ist. Diese Glasglocke hat an ihrer vorderen kreisrunden Öffnung eine Einfalzung, damit der dem Versuchstier überzustülpende, aus Gummituch dargestellte Kopfsack *K* luftdicht angeschlossen werden kann. Dieser Kopfsack entspricht dem von *Brauer* für seinen beim Menschen anwendbaren Überdruckapparat angegebenen und garantiert einen sehr guten und einfachen Abschluß des Tierkopfes gegen die Außenluft dadurch, daß der im Apparat herrschende Überdruck das Gummituch fest gegen den Kopf des Versuchstieres drückt. Man muß sich für die verschiedenen Kopfformen und Größen der einzelnen Versuchstiere mehrere derartige Kopfsäcke bereithalten.[1] Er ist auf der Photographie dem Apparat angeschlossen. Ferner befinden sich an dem Messingrohr noch drei weitere Öffnungen; eine auf der abführenden Seite *(MA)*, sie führt zu einem in das Holzbrett eingelassenen einfachen Quecksilbermanometer, wie es *Brauer* für Druckmessungen bei Anlegung des künstlichen Pneumothorax am Menschen angegeben hat. Die beiden anderen Öffnungen befinden sich vor und hinter dem Hahn *H*. Sie stellen eine Nebenleitung her, um bei geschlossenem Hahn *H* die Luft durch das Glasgefäß *N* zu führen. In diesem Glasgefäß befindet sich die zur Inhalationsnarkose zu verwendende Flüssigkeit, die auch während des Versuches durch die mittlere der drei oberen Öffnungen immer wieder nachgefüllt werden kann. Um ein Verdunsten des Narkotikums bei offener Hahnstellung *H* in das Röhrensystem hinein zu vermeiden, ist an dem abführenden Schenkel des Glasgefäßes ein einfacher Glashahn, der eventuell auch am zuführenden Schenkel eingefügt werden könnte, eingeschaltet.

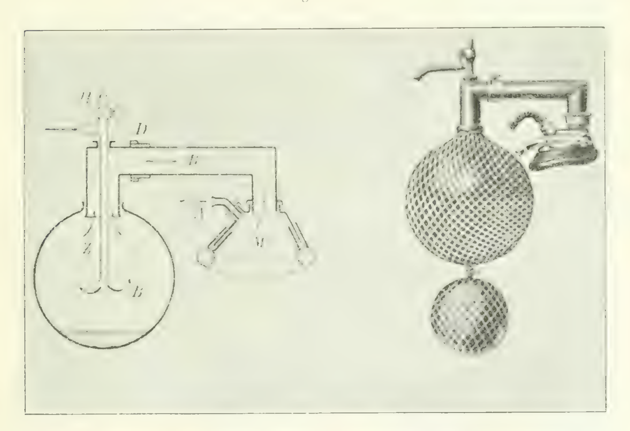
Es würde sich ein Versuch mit dieser Apparatur also folgendermaßen gestalten: Dem vorher leicht narkotisierten Tiere wird die Gummikappe über den Kopf gezogen, so daß Nase und Schnauze frei sind. Dann wird das Tier in Rücken- oder Seitenlage gefesselt, an das Brett herangeschoben, der Kopf nach Möglichkeit in die Glasglocke gebracht und der umgestülpte Gummibeutel möglichst fest auf den vorderen Falz fixiert. Man läßt dann durch den luftstromerzeugenden Apparat die Druckluft in das System einstreichen und hört schon, ob an dem Ansatz des Gummibeutels irgend eine Undichtigkeit besteht. Diese würde eventuell etwas mit Fett abzudichten sein. Zu Beginn wird man den Überdruck, dessen Größe man am Quecksilbermanometer ablesen kann, natürlich nicht besonders hochtreiben, sondern erst dann verstärken, wenn der Brustkorb eröffnet ist. Durch einfaches Höher- oder Tiefersenken des im Wasser befindlichen Steigrohres kann man den gewünschten Blähungszustand der Lungen her-

[1] Geliefert von *Holzhauer*-Marburg a. L.

stellen. Die Narkose kann nach Belieben geregelt werden. Durch die Verwendung einer Glasglocke als Rezipient des Tierkopfes ist es besser möglich, sich über das Aussehen des Tieres zu orientieren als in einem Blechkasten. Es braucht natürlich nicht besonders betont zu werden, daß für kurarisierte Tiere diese Apparatur nicht verwandt werden kann, da ja das Tier unter den vorliegenden Verhältnissen durch eigene Atembewegungen seinen Gasstoffwechsel in der Lunge besorgen muß.

Ein Apparat, der einen Überdruck bei Maskenatmung hervorzubringen sucht, ist unter anderem der von *Brat-Schmieden* und der von *Tiegel*[1]) angegebene. Die Abbildungen zeigen die ganze *Tiegel*sche Apparatur, die recht brauchbar ist (Fig. 168 u. 169).


Fig. 168.



Überdruckapparatur nach *Tiegel*. (Maske mit Luftreservoir und Narkosebehälter.)

Sie besteht:

1. aus einer Blechmaske *(M)*, die mittelst einer aufgestülpten, mit Luft gefüllten Gummipelotte der Schnauze des Versuchstieres luftdicht aufgedrückt und außerdem durch einen rasch zu lösenden Gurt befestigt werden kann;

2. aus einem mit Netz übersponnenen Gummiballon *(B)*, der durch ein weiteres Rohr *(R)* mit der Maske kommuniziert und zugleich Luftreservoir und Behälter für den Narkosenäther darstellt. Die weite Lichtung des Verbindungsrohres sichert eine unbehinderte Atmung.

Das weite Verbindungsrohr *(R)* ist über dem Ballon von einem dünneren Rohr *(Z)* durchbohrt, das etwa bis in das Zentrum des aufgeblähten Ballons reicht und mit einer Druckluft liefernden Quelle (Sauerstoffbombe, Wasserstrahlluftpumpe), in Verbindung gebracht, als Zuführungsrohr der Druckluft dient.

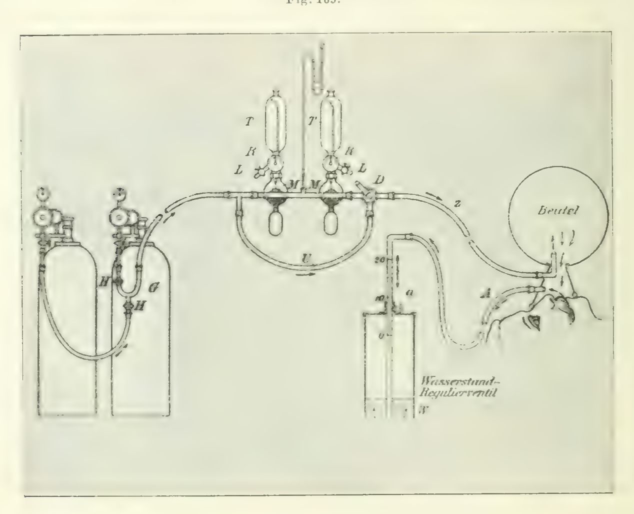
---

[1]) Zentralbl. f. Chir. Bd. 35. S. 679 (1908). *Bruns* Beiträge. Bd. 64. S. 356 (1909); Bd. 68. S. 584. (1910).

In das Dach der Maske ist ein zweites dünnes Rohrstück *(A)* eingefügt, das mit einem Wasserstanddruckventil verbunden wird und durch dieses die Ableitung der überschüssigen Druckluft samt den Exspirationsgasen aus der Maske ermöglicht.

Das Wasserstanddruckventil besteht aus einem hohen, zur Hälfte mit Wasser gefüllten Glasgefäß, in welches ein Metallrohr eintaucht. Das Metallrohr ist durch einen an dem Deckel des Gefäßes angebrachten Zahnradtrieb verstellbar, so daß das Ventil und damit auch der Druck in der Maske leicht reguliert werden kann. Das Ventil hält den Druck der Luft in dem ganzen System auf einer gewünschten gleichmäßigen Höhe und verhütet ein Ansteigen über diese hinaus, andrerseits gestattet es bei genügend reichlich gewählter Luftzufuhr ein fortwährendes Abströmen von Luft, wodurch die Atmungsluft in Ballon und Maske stetig erneuert wird.

Fig. 169.



*Tiegel*sche Apparatur.

Beide an der Maske angebrachte Rohre *(R* und *A)* sowie das in dem Ballon führende Zuleitungsrohr *(Z)* sind drehbar. Ferner ist auch in das Verbindungsstück zwischen Maske und Ballon ein drehbares Gewinde *(D)* eingefügt. Es ist so möglich, den Apparat den verschiedenen Lagen des Versuchstieres anzupassen.

Das in den Ballon führende Zuleitungsrohr *(Z)* läuft oben in einen durch einen Hahn verschließbaren Ansatz *(H)* aus, durch welchen auch während der Narkose mittelst einer Spritze Äther in den Ballon nachgefüllt werden kann, ohne eine Unterbrechung des Überdruckes herbeizuführen.

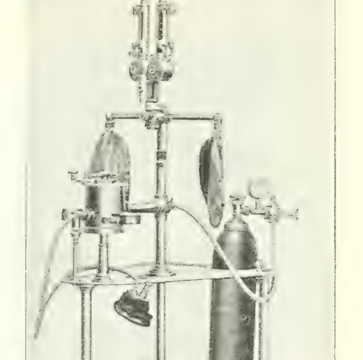
Sehr brauchbar ist auch die Apparatur von *Brat*[1]), die durch ein einfaches, von *Schmieden* in der Maske angebrachtes Schraubenventil hier beliebig zu ändernde Druckerhöhungen herzustellen erlaubt (Fig. 170).

[1] *Brat-Schmieden,* Münchner med. Wochenschr. 55. S. 2421 (1908).

Der Vorwurf, der all diesen kleineren Überdruckapparaturen — besonders den Maskenapparaten — gemacht wird, daß sie nämlich größere Druckschwankungen, die die Konstanz der Druckdifferenz natürlich etwas illusorisch machen, nicht ganz beseitigen können, gilt auch für die Tierexperimente. Im allgemeinen werden aber kaum von den Versuchstieren plötzlich derartig größere Luftquanten entnommen, daß hieraus besondere Gefahr entstehen könnte. Es muß nur, wie schon betont, durch gute Narkose die Preßatmung vermieden werden.

Die sämtlichen Apparate haben sich in der Hand geschickter Experimentatoren auch in der einfachsten Zusammensetzung gut bewährt. Sie erlauben eine verschiedene Lagerung des Tieres, ein unbehindertes Arbeiten bis zum Halse hinauf und nehmen nicht viel Platz weg. Sie lassen sich an jedem Operationstisch ohne weiteres anbringen und sind bei allen Operationen, die in der Druckdifferenz gemacht werden müssen, verwertbar. Auszunehmen sind, wie schon erwähnt, Fälle, bei denen Lungenexstirpationen ausgeführt werden müssen. Hier hat *Sauerbruch* bessere Resultate in der Nachbehandlung bekommen, wenn er die Operation im Unterdruck vornahm.

Fig. 170.



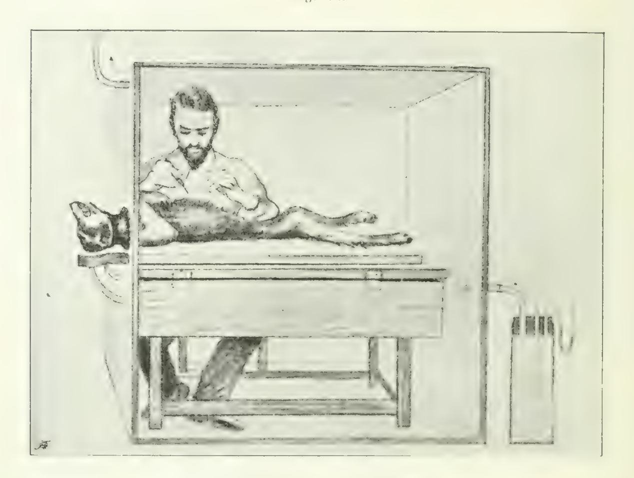
Überdruckapparat nach *Brat-Schmieden*.

Da im allgemeinen bei den kurzdauernden Eingriffen beim Tier die Überdruckapparatur vollkommen genügt, soll von einer Beschreibung der Unterdruckkammer, die wohl kaum für ein experimentelles Laboratorium beschafft werden dürfte und nur dort angewandt wird, wo in einer benachbarten chirurgischen Klinik ein derartiger Apparat zufällig vorhanden ist, Abstand genommen werden. Nur zwei Abbildungen mögen das vorne schon im allgemeinen gezeichnete Verfahren kurz illustrieren (Fig. 171 und 172).

Auch zu den Überdruckapparaturen gehören im Prinzip jene Methoden, die, auf eine Masken- oder Kastenanwendung verzichtend, die Druckluft bis in die Trachea resp. bis zur Bifurkation des rechten und linken Bronchus mittelst feiner Katheter oder Schläuche führen. Zwei Apparaturen stehen hier zur Verfügung, die sich dadurch unterscheiden, daß die per-

orale Tubage nach *Kuhn*[1]) unter Verwendung eines möglichst weiten Metallschlauches erfolgt, während die Sauerstofflüftung nach *Volhard*[2]) und die Insufflation nach *Meltzer*[3]) auf diese weiten Zufuhrrohre und einen entsprechenden Abschluß der Trachea verzichten. Die Erfahrungen haben ergeben, daß man nicht nur bei geschlossenem Thorax durch Zufuhr von Sauerstoff oder von sauerstoffreicher Luft unter einem geringen Überdruck in der eben beschriebenen Weise atmungsgelähmte Tiere, wie auch Menschen stundenlang am Leben erhalten kann, sondern daß es auch gelingt, die Gefahren des doppelseitigen Pneumothorax mit diesen Methoden zu beseitigen. Es hat sich die *Volhard*sche Lungenlüftung, ebenso wie das

Fig. 171.



Unterdruckkammer nach *Sauerbruch*.

Verfahren von *Meltzer* und *Kuhn* (die sich alle mehr oder weniger kombinieren lassen) auch im Tierexperiment bei eröffnetem Brustkorb gut bewährt, wenn auch die Verhältnisse, die man dadurch erreicht, nicht vollkommen denen gleichzusetzen sind, die bei der Verwendung der oben beschriebenen Druckdifferenzverfahren auftreten.

Im folgenden sei kurz das einfachste dieser Verfahren für Tierexperimente beschrieben:

Man führt entweder durch eine Tracheotomiewunde oder peroral (wie bei der Intubation) einen Nelatonkatheter in die Luftröhre bis etwa zur Bifurkation ein. Der

---

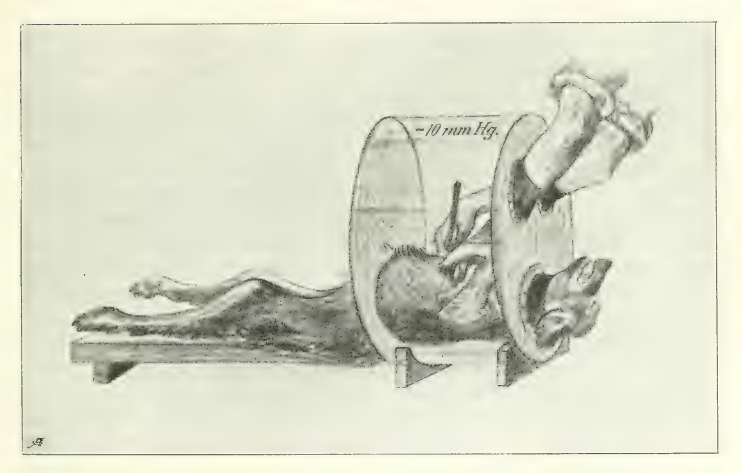
[1]) *Kuhn*, Zentralbl. f. Chir. **31**. S. 1177 (1904); Zeitschr. f. klin. Chir. Bd. **78**. S. 467 (1905).

[2]) *Volhard*, Münchner med. Wochenschr. **55**. S. 208 (1908).

[3]) *Meltzer*, Berliner klin. Wochenschr. **47**. S. 566 (1910).

Katheter muß spielend in der Trachea Platz haben, da sonst der Rückstrom der Luft aus den Lungen heraus erschwert wird. Aus demselben Grunde muß man dafür sorgen, daß Verlegungen durch Schleim oder wenn man eine Tracheotomiewunde setzt, durch Gerinnsel usw. vermieden werden. Aus diesem Grunde ist daher ein doppelläufiger Katheter ganz angebracht; nur wird er sich bei kleineren Tieren wegen der engen Verhältnisse schlecht verwenden lassen. Dieser Katheter wird entweder an eine Sauerstoffbombe oder an eine andere druckluftspendende Quelle angeschlossen. Durch eine Seitenöffnung, die man mit einem Quetschhahn in beliebiger Weise verengern oder erweitern kann, sorgt man für die feinere Regulierung des Druckes im System, falls kein Reduktionsventil zur Verfügung steht. Sonst ist das Vorgehen genau so, wie bei den anderen beschriebenen Druckdifferenzverfahren.

Fig. 172.



Ursprünglicher Apparat zur Eröffnung der Brusthöhle im Unterdruck *(Sauerbruch)*.

Eigene Beobachtungen haben gezeigt, daß kurzfristige Operationen an den Thoraxinnenorganen auf diese Weise sehr gut ausgeführt werden können, daß jedoch eine Gleichwertigkeit mit den oben beschriebenen Methoden nicht besteht.

Zum Schluß seien noch einige nähere Angaben über das operative Vorgehen gemacht. Die unter Druckdifferenz am Thorax vorgenommenen Operationen haben beim Tier wohl vorwiegend den Zweck, am Herzen oder an den großen Gefäßen und am Lungenhilus ungestört arbeiten zu können. Am Lungenparenchym selber werden wohl weniger Eingriffe ausgeführt werden, als es in der menschlichen Pathologie der Fall ist. Bei größeren Tieren und dort, wo die Operation überlebt werden soll, eignet sich am besten der auch beim Mensch fast ausschließlich verwandte Interkostalschnitt, den man rechts oder links, je nach Bedarf, bei Manipulationen am Herzen am besten links im 3., 4. oder 5. Interkostalraum anlegen kann. Die Ausdehnung des Schnittes kann beliebig groß ge-

wählt werden. Um gute Übersicht zu haben, dehnt man ihn am besten von der Wirbelsäule bis zum Brustbein aus und kann ihn sogar mit querer Durchtrennung des Brustbeins bis auf die gegenüberliegende Seite fortsetzen. Die Blutung ist gering. Eine Interkostalarterie wird bei vorsichtigem Vorgehen nicht angeschnitten. Die Arteria mammaria kann man durch Umstechung, bei kleineren Tieren am besten um das Sternum herum fassen. Zum Auseinanderhalten der Rippen bedient man sich zweier breiter Haken oder eventuell eines der sehr praktischen Rippensperrer von *Friedrich, Mikulicz* oder *Sauerbruch*. Es werden unter Umständen Indikationen zu einem anderen Schnitt bestehen; so kann man, wozu das Tier jedoch auf den Bauch angebunden werden muß, an den Lungenhilus auch vom Rücken aus kommen, wobei man durch einen Paravertebralschnitt die Längsmuskel des Rückens frei legt und dann stumpf auseinanderzieht, bis man auf die Rippen kommt, die dann einzeln zu durchtrennen sind. Häufiger wird wohl das Vorgehen einzuschlagen sein, das man früher auch wählte, um ohne Eröffnung der Pleurahöhlen an das Herz und die großen Gefäße zu gelangen, d. h. die Längsdurchtrennung des Brustbeins. Dieses Verfahren ist ohne Schwierigkeiten bei kleineren und jungen Tieren auszuführen, bei denen das Brustbein noch nicht stark verknöchert usw. ist. Bei jungen Hunden, Katzen und Kaninchen ist der Eingriff nicht schwierig. Man muß sich nur hüten, unten das Zwerchfell, oben die Halsgefäße und in der Mitte Lunge, Herzbeutel oder auch das rechte Herz zu verletzen, wenn man nach kurzem Einstich mit dem Messer mit gedeckter Scheere, am besten unter Leitung des Fingers, das Brustbein längs mit einigen Schlägen durchtrennt. In diesen Fällen eignet sich zur Blutstillung am besten je eine auf beiden Seiten am oberen und unteren Ende des Brustbeins ausgeführte Umstechung, die vor allem die Arteria mammaria faßt. Man kann mit den langgewählten Umstechungsfäden durch Anfügung von Gewichten den Brustkorb sehr gut zum Klaffen bringen. Bei größeren Tieren ist dieses Vorgehen nicht zu empfehlen. Es ist sehr blutig, schafft abnorme Verhältnisse der Atmung und gewährt keine sehr gute Übersicht. In gleicher Weise ist wenig geeignet der parasternale Schnitt, der außerdem etwas langsam zum Ziel führt, weil mit den einzelnen Rippendurchtrennungen und Unterbindungen usw. viel Zeit verloren geht und bei diesen Operationen möglichste Beschleunigung am Platze ist.

Die Verwendung der Druckdifferenz würde sich bei dem üblichen Interkostalschnitt z. B. folgendermaßen gestalten: Das bereits an dem Überdruckapparat angeschlossene Tier wird bis zu dem Moment, wo man auf die Pleura kommt, am besten noch nicht unter Überdruck gehalten, weil sonst die Blutungen aus den Hautwunden usw. ziemlich stark sind. Will man die Pleura durchtrennen, so stellt man den Überdruck ein, jedoch nicht sehr hoch, etwa 3—4 *mm* Hg. Es wird auf diese Weise erreicht, daß nach dem ersten Einstich in die Pleura sofort ein kleiner Pneumothorax entsteht und die unter Führung des Fingers weiter mit der Schere durchgeführte Pleuradurchtrennung ohne Verletzung der Lunge

erfolgen kann. Man muß bei den Arbeiten an der Pleura, ebenso wie später bei operativem Vorgehen am Lungenhilus oder Mediastinum gewärtig sein, auf reflektorischem Wege starke Atem- und Schlagfolgestörungen am Herzen zu bekommen, die am deutlichsten dann eintreten, wenn man aus Versehen den Vagus zerrt. Geht ein derartiger Schock nicht sofort vorüber, so hat man es ohne weiteres in der Hand, durch starke Druckschwankungen im Überdrucksystem abwechselnd Kollaps und Überdehnung der Lunge hervorzurufen, und auf diese Weise eine sog. künstliche Atmung zustande zu bringen, die selten ihren günstigen Effekt auf das Herz vermissen läßt. Während der Operation wird man, den jeweiligen Bedürfnissen entsprechend, den Überdruck regulieren. Zum Arbeiten am Lungenhilus wird man nur geringere Druckwerte von 3 *mm* Hg, die zur Erhaltung des Kreislaufs und der Atmung vollkommen genügen, wählen. Selbst weitere Minderung des Drucks ist, wenn sie nur kurze Augenblicke dauert, nicht gefährlich. Zu lange darf man sie jedoch nicht ausdehnen, weil sonst schwere, funktionelle Schädigungen des Herzens eintreten. Will man am Herzen selber arbeiten, so wird man ebenfalls einen mittleren Druck innehalten. Bei zu geringem Druck sinkt das Herz weit nach hinten zurück; bei zu starkem Druck wird es überdeckt. Die Naht am Herzen ist bei zirka 3 *mm* Hg Überdruck[1]) am leichtesten zu bewerkstelligen, da dann die Herzfüllung nur gering und die Wand erschlafft ist. Hat man aus Versehen irgendwo die Lunge angeschnitten, so wird sich unter Umständen die Schnittwunde dem Nachweis entziehen, wenn der Druck zu niedrig ist. Bei geringerer Druckerhöhung wird man jedoch sofort aus dem Hervorsprudeln von Luft und Blut die Schnittwunde entdecken können und sie eventuell dann vernähen. Chirurgische Einzelheiten hierüber anzugeben, ist nicht Aufgabe des Artikels.[2])

Es ist selbstverständlich, daß dort, wo die Tiere überleben sollen, nach allen Regeln der Asepsis verfahren und die Pleura möglichst wenig gereizt wird.

Will man nach beendeter Operation den Thorax wieder schließen, so geschieht das zunächst auch bei mittleren Druckverhältnissen durch Naht der Pleura, dann aber durch die sog. Perikostalnaht, wobei die beiden Rippen, zwischen denen der Schnitt liegt, durch feste Nähte aneinander geschlossen werden, da sonst zu leicht ein Auseinanderweichen der Wundränder und Undichtwerden der Wunde eintritt. Ehe man die letzten Nähte knüpft, wird man durch Erzeugung eines starken Überdrucks nach Möglichkeit alle Luft aus dem Pleuraraum heraus zu treiben suchen. Das Überbleiben eines Pneumothorax erhöht nach den bisherigen Erfahrungen die Infektionsgefahr. Die Wunde wird man am besten mit einem Mastixverband versehen.

---

[1]) *Sauerbruch,* Arch. f. klin. Chir. Bd. 83. S. 537 (1907).

[2]) Einzelheiten s. *Sauerbruch* und *Schuhmacher,* Technik der Thoraxchiru[rgie]. Berlin 1911.

Die Thymektomie, Thyreoidektomie und Splenektomie beim Hunde.

Von **Arno Ed. Lampé**, Halle a. S.

Die zu behandelnden Operationen werden gewöhnlich ausgeführt, um die Ausfallserscheinungen nach Wegnahme des Thymus, der Schilddrüse oder der Milz zu studieren. Diesen Organen wohnt eine sehr starke Regenerationskraft, eine erstaunliche vitale Energie inne. Bleibt bei der Operation ein geringster Geweberest stehen, so setzt ein mächtiger regenerativer Prozeß ein, der erst mit einer fast vollständigen Wiederherstellung des Organes endet. Damit ist der Erfolg des Eingriffs illusorisch geworden. Werden deshalb die genannten Operationen unter dem zum Ausdruck gebrachten Gesichtswinkel vorgenommen, so muß man peinlich darauf achten, daß die betreffenden Drüsen quantitativ entfernt werden.

1. Die Thymektomie.

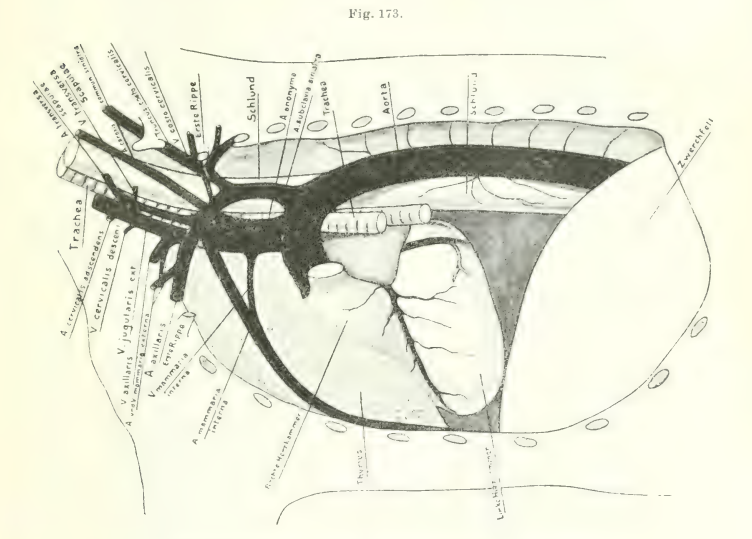
A. Topographische Anatomie und physiologische Involution des Thymus beim Hunde. Schlußfolgerungen für die Operation.

Der Thymus stellt beim Hunde ein einheitliches, plattes Organ von blaßgrauem Aussehen dar, das aus zwei mehr oder weniger deutlich sichtbaren, seitlichen Lappen besteht. Es liegt hinter dem Sternum zwischen beiden Lungen im Cavum mediastinum anticum. Die Drüse erstreckt sich von der 1. bis zur 6., zuweilen auch bis zur 7. Rippe und liegt mit ihrem kaudalen Teile dem Herzen bzw. dem Herzbeutel ziemlich breit auf. Ihr oraler Teil reicht dorsal an den Arcus aortae, die Trachea, die Arteria anonyma und an deren Äste heran, von denen die Arteria subclavia und die Arteria mammaria interna über ihre Seitenflächen ziehen. An ihrem Ursprunge ist die Arteria mammaria auf eine kleine Strecke hin in das Drüsenparenchym eingebettet, an das sie mehrere Zweige abgibt. Ein kleiner Teil des Thymus tritt an der ventralen Seite der Luftröhre zwischen dem ersten Rippenpaare aus der Brusthöhle. Dieser sogenannte extrathorakale Teil der Drüse stellt $^1/_5$—$^1/_6$ des Gesamtorganes dar. Er überlagert die Vena jugularis und grenzt an die Carotiden. Der ventral von den großen Gefäßen liegende Drüsenteil imponiert als ein einziger Körper,

der aborale oder kaudale Teil zieht sich in Form von zwei Schenkeln bis an die Spitzen des Perikards. Der linke dieser beiden Schenkel erstreckt sich gewöhnlich tiefer und ist etwas voluminöser als der rechte. Sehr häufig beobachtet man, daß auch der oberhalb des Mittelstücks gelegene Teil sich in zwei Zipfel gabelt. Zuweilen läßt sich feststellen, daß ein oraler oder kaudaler Zipfel fehlt. Im allgemeinen ist der links von der Medianlinie gelegene Drüsenanteil beträchtlich stärker ausgebildet als der rechte (s. Fig. 173).

Nach der Geburt verhält sich das Gewicht des Thymus zum Körpergewicht wie 1 : 250. In den ersten 8—14 Lebenstagen nimmt die Drüse

Fig. 173.



Topographische Anatomie des Hundethymus am 10. Lebenstage.

an Gewicht zu. In dieser Phase der maximalsten Entwicklung sind die Relationen zwischen Thymus und Körpergewicht wie 1 : 170. Am 14. Lebenstage beginnt für den Hundethymus das Stadium der Involution. Diese geht sehr rasch — in den ersten 2—3 Lebensmonaten — vor sich. In dieser Zeit verschiebt sich das Verhältnis des Thymusgewichts zum Körpergewicht bis zu 1 : 1200—1600. Zunächst involviert der intrathorakal gelegene Organteil. Am Ende des 2.—3. Lebensmonats hat die Involution der Thymusdrüse des Hundes bis auf kleinste Reste ihr Ende erreicht. Nach dem 2.—3. Lebensjahre lassen sich nur noch Spuren des Organs nachweisen.

Aus den gegebenen anatomischen und physiologischen Daten lassen sich verschiedene wichtige Schlußfolgerungen für die Operation ab-

leiten. Zunächst ist klar ersichtlich, daß die Thymusexstirpation innerhalb der ersten 14 Lebenstage vorgenommen werden muß, wenn man die Ausfallserscheinungen in ihrer eklatantesten Form erhalten will. Als der optimale Operationstag hat sich der 10. postnatale Tag ergeben. Um diese Zeit — dies ist der zweite wichtige Punkt — läßt sich das Operationsgebiet am besten übersehen. Die Drüse in ihrer Vollentwicklung bietet sich als ein gegen ihre Umgebung scharf abgegrenztes, großes und plastisches Organ dar. Aus diesem Grunde läßt sich bei sorgfältigem Operieren die Garantie, daß die Wegnahme eine quantitative sei, sicherer bieten. Schließlich gestaltet sich in dem angegebenen Zeitpunkt der an und für sich schwierige und für den Organismus des Tieres schwerwiegende Eingriff relativ einfach. Die Verklebung der Drüse mit der Nachbarschaft, den Gefäßen ist lockerer, stärkere Blutungen lassen sich leichter vermeiden, der Operationsshock ist geringer. Dazu kommt noch, daß die Tiere in dieser Jugend die Folgen des unvermeidlichen Pneumothorax fast ausnahmslos überwinden.

Es sei hier angefügt, daß die in der 3. bis 4. Lebenswoche vorgenommene Thymusausrottung ebenfalls Ausfallssymptome zeitigt. Nur treten diese später und langsamer ein und tragen zuweilen mehr passageren Charakter. Den Eingriff noch später vorzunehmen, muß, um Schlüsse auf die physiologische Funktion des Thymus im Organismus zu ziehen, nach der heutigen Kenntnis der Dinge als unstatthaft bezeichnet werden.

B. Operationstechnik.

Es ist bereits zum Ausdruck gebracht worden, daß bei der Thymektomie das Entstehen eines, gewöhnlich doppelseitigen, Pneumothorax unvermeidlich ist. Die daraus entstehenden Gefahren lassen sich am besten dadurch ausschalten, daß man unter Anwendung des sogenannten Druckdifferenzverfahrens operiert, obwohl zuzugeben ist, daß bei großer Übung und Schnelligkeit des Operierens auch ohne dieses der Eingriff von Erfolg begleitet sein kann. Wer jedoch Gelegenheit hatte, beide Methoden in Anwendung zu bringen, wird stets zum Druckdifferenzverfahren greifen, da man, abgesehen von der besseren Aussicht auf Erfolg, mit größerer Muße, Sorgfalt und Gründlichkeit zu Werke gehen kann. Dadurch wird der Eingriff hinsichtlich der Technik ganz wesentlich erleichtert. Damit ist gegeben, daß die Thymektomie stets unter Anwendung des Druckdifferenzverfahrens auszuführen ist.

Es stehen uns verschiedene Druckdifferenzmethoden zur Verfügung. So das *Tiegel*sche Unterdruckverfahren, die *Sauerbruch*sche Kammer etc. Am meisten hat sich in der Praxis ein Überdruckverfahren bewährt, das in dem Institute für experimentelle Chirurgie zu Frankfurt a. M. ausgearbeitet worden ist und dessen Apparatur im Nachstehenden beschrieben werden soll. Der in Frage stehende Apparat, der sich durch seine Einfachheit und Leichtigkeit in der Handhabung auszeichnet, stellt

eine zweckentsprechende Modifikation des bekannten *Volhard*schen Apparates dar (s. Fig. 174 und 175). Mit Hilfe eines Blasebalges wird Luft in ein geräumiges Gummikissen gepreßt, das als erste Luftvorlage dient. Von hier aus wird die Luft durch einen abführenden Schlauch, der sich in zwei Äste teilt, die sich später wieder vereinigen, zu einer zweiten kleineren

Fig. 174.

Klemmschraube *a*

Manometer

Tropftrichter

Gummiballon: 2. Luftvorlage

Klemmschraube *b*

Klemmschraube *c*

Florenzflasche

Überdruckmaske

Blasebalg

Gummikissen 1. Luftvorlage

Luftableitender Schlauch mit Glasrohransatz

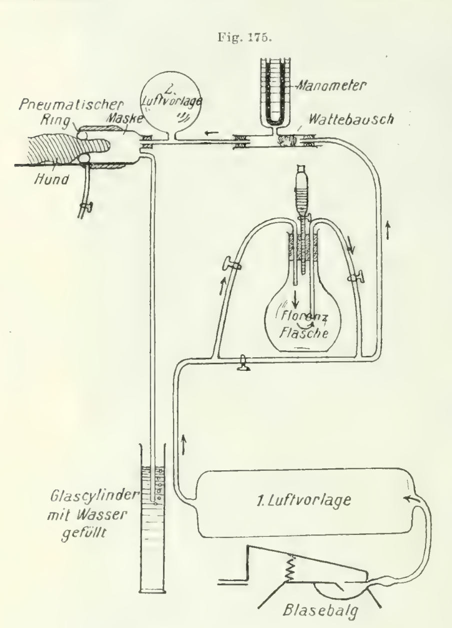
Wassergefüllter Zylinder

Modifizierter *Volhard*scher Überdruck-Apparat mit einfacher Überdruckmaske im Gebrauch.

Vorlage geführt, die in direkter Verbindung mit einer Maske steht. Die Verästelung des luftzuführenden Schlauches ist gewählt, um je nach Belieben reine oder mit einem Narkoticum gemischte Luft dem Tiere zuführen zu können. Zu diesem Zwecke ist in den einen Zweig der Verästelung eine Florenzflasche eingeschaltet. Diese trägt einen Gummistopfen mit dreifacher Durchbohrung für das Zuleitungsrohr, das Ableitungsrohr und

einen Tropftrichter, der das Narkoticum enthält und eine feine Dosierung desselben ermöglicht. Durch diese Anordnung wird das Zweigsystem gewissermaßen in drei Teile geteilt, von denen jeder mit einer Klemmschraube versehen ist. Sind die Klemmschrauben *a* und *b* geschlossen, die Klemmschraube *c* geöffnet, so strömt reine Luft direkt zur Maske. Ist die Klemmschraube *c* geschlossen und die Klemmschraube *a* und *b* geöffnet, so passiert die Luft die Florenzflasche, um mit dem Narkoticum gemischt zur Maske zu gelangen. Dem luftzuleitenden Schlauch ist ein Manometer angeschaltet, um den Druck, der in dem System herrscht, zu kontrollieren. In dem kurzen Glasrohre, an dem das Manometer angebracht ist, befindet sich ein Wattebausch, der dazu dient, die gröberen Luftverunreinigungen abzufangen (s. Fig. 175). Die Luftvorlagen haben den Zweck, ein möglichst gleichmäßiges Abströmen der Luft zu ermöglichen.

Fig. 175.

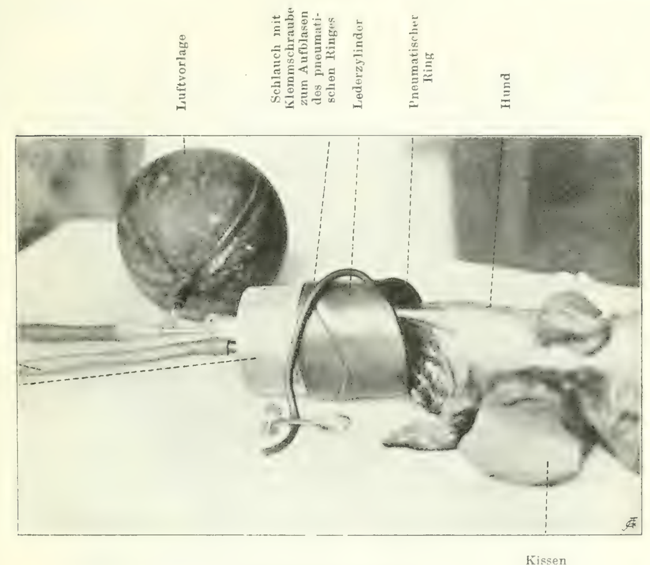


Überdruckapparat in schematischer Darstellung.

Die Maske (s. Fig. 176) in ihrer gebräuchlichsten und einfachsten Form ist folgendermaßen eingerichtet: Einem an dem einen Ende geschlossenen Blechzylinder ist ein Lederzylinder aufgesetzt, dessen freies Ende dem Hundekopf möglichst konform gestaltet ist. Dieses trägt an seinem inneren Rande einen pneumatischen Ring, der durch einen Schlauch mit der Außenwelt in Verbindung steht, durch verschieden starkes Aufblasen jeder Kopfgröße angepaßt werden kann und einen luftdichten Abschluß garantiert. An dem anderen Ende der Maske sind zwei Öffnungen angebracht, die eine für den luftzuführenden, die andere für den luftableitenden Schlauch, der in ein Glasrohr ausläuft (s. Fig. 174). Dieses taucht in einen wassergefüllten Zylinder ein. Durch Heben oder Senken des im Wasser befindlichen Rohres, d. h. durch Änderung des zu überwindenden Widerstandes, kann der Druck, der in dem ganzen System herrscht und der durch das beschriebene Manometer angezeigt wird, reguliert werden.

Es ist noch hervorzuheben, daß sich der geschilderte Apparat in ausgezeichneter Weise mit der sogenannten *Meltzer*schen Tubage kombinieren läßt. Die von *Meltzer* ausgearbeitete Methode besteht darin,

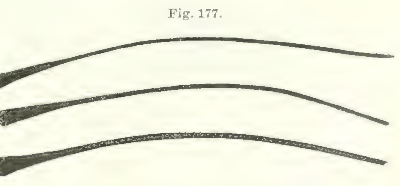
Fig. 176.



Überdruckmaske im Gebrauch.

daß man ein Tubage- oder Intubationsrohr ein dem Katheter nachgebildeter Hartgummischlauch in die Trachea einführt und durch dieses die Luft oder das Narkoticum zuleitet (s. Fig. 177).

Fig. 177.



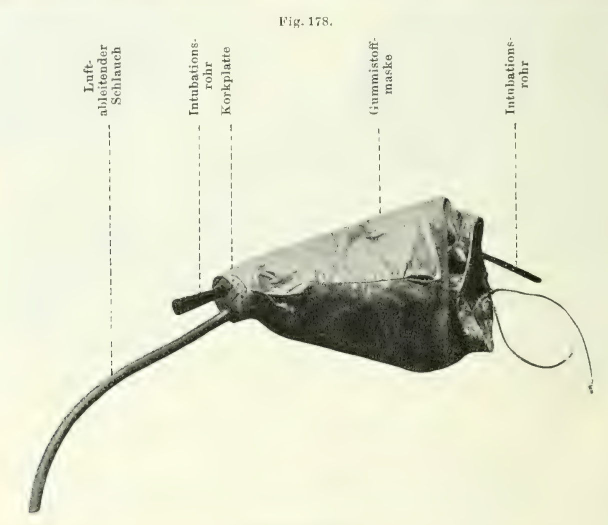
Intubationskatheter verschiedener Größe.

Die Intubation wird so ausgeführt, daß man mit dem Zeigefinger in das Maul des mit Äther leicht betäubten Hundes eingeht, den Kehldeckel sachte gegen den Zungengrund preßt und unter Leitung des Fingers das Tubagerohr durch die Glottis in die Luftröhre einführt. Um zu verhindern, daß das Tier das Rohr durchbeißt, ist es zweckmäßig, ihm ein rundes, geglättetes Stück Holz wie eine Trense zwischen die Zähne zu schieben, das in der Mitte ein Loch zum Durchleiten des Intubationsrohres besitzt

(s. Fig. 179). Die *Meltzer*sche Tubage ist bei einiger Übung relativ leicht auszuführen. Will man diese Methode in Verbindung mit dem beschriebenen Überdruckapparat in Anwendung bringen, so muß die Maske etwas abgeändert werden (s. Fig. 178).

An einer doppelt perforierten Korkplatte ist ein Sack aus luftdichtem Gummistoff angebracht, der sich an seinem freien Ende zuschnüren läßt. Durch die eine Öffnung der Korkplatte führt das Tubagerohr, das in Verbindung mit dem Überdruckapparat steht. Die andere Öffnung dient dem ableitenden Schlauche, der, wie oben beschrieben, mit einem Glasrohr in einen wassergefüllten Zylinder mündet. Diese Maske wird folgendermaßen

Fig. 178.



Intubationsmaske.

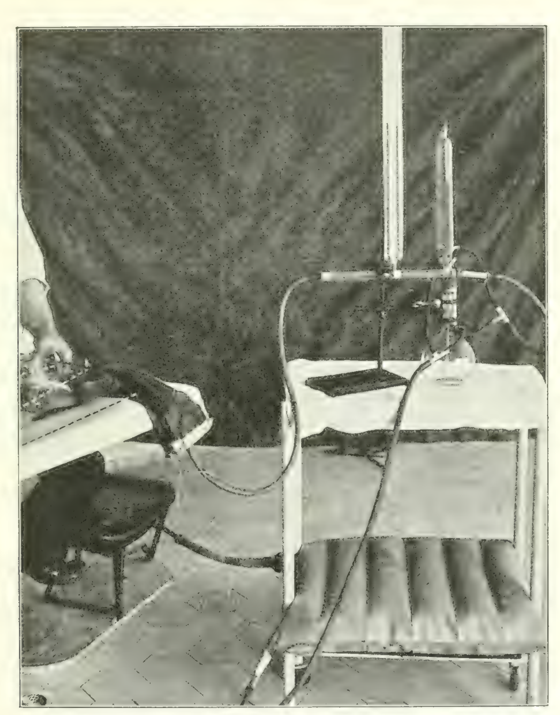
angelegt: Zunächst wird der luftdichte Sack zurückgeschlagen und die Intubation, wie angegeben, ausgeführt (s. Fig. 179). Hat man sich davon überzeugt, daß das Tubagerohr gut liegt, so wird der erwähnte Sack über den Kopf des Tieres gestülpt und am Halse geschlossen (s. Fig. 180).

Es muß jedoch betont werden, daß es nicht ratsam ist, bei ganz jungen Hunden, wie wir sie zur klassischen Thymektomie verwenden, die Intubation auszuführen. Denn der Eingriff ist bei solchen Tieren, im Gegensatz zu den älteren, infolge der noch geringen Entwicklung der Epiglottis und des Larynx und der sehr kleinen Verhältnisse äußerst schwierig. Verletzungen sind nicht selten und der auftretende Shock ist unverhältnismäßig groß. Bei den Säuglingstieren bevorzugt man zweckmäßig die an erster Stelle geschilderte Maske.

Die Operation

als solche gestaltet sich im einzelnen wie folgt: Die Desinfektion des Operateurs besteht in je 5 Minuten langem Waschen der Hände mit Seife und Bürste in warmem, fließendem Wasser, 70%igem Alkohol und Sublimat. Das Operationsfeld — Sternalgegend und Jugulum des Tieres — wird

Fig. 179



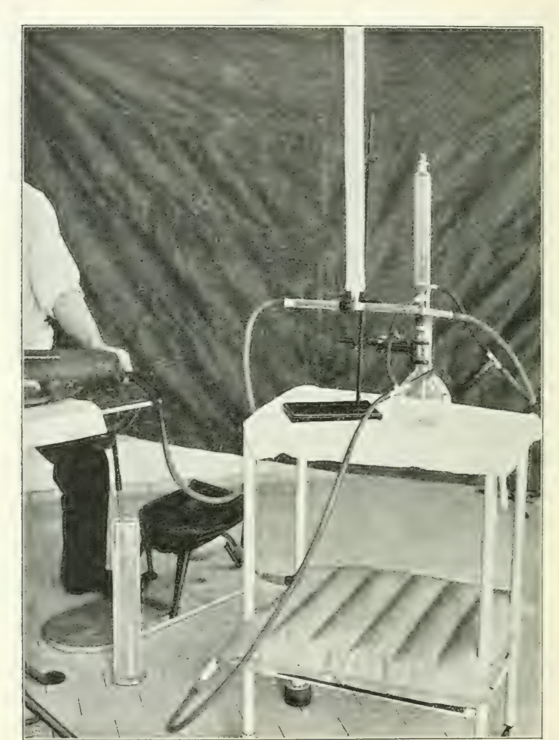
Modifizierter *Volhard*scher Überdruckapparat mit Intubationsmaske.
Die Intubation ist ausgeführt, die luftdichte Maske zurückgeschlagen.

sorgfältig eingeseift, rasiert, mit Alkohol und Sublimat desinfiziert und schließlich mit offiz. Jodtinktur betupft. Der Hund wird mit zurückgebeugtem Kopfe und durch ein Kissen unterstütztem Halse gelagert, und die mit dem Überdruckapparat in Verbindung stehende Maske angelegt. Die Operation findet bei einem Überdruck von 3—5 *mm* Hg statt. Am zweckmäßigsten wird eine leichte Äthernarkose eingeleitet (s. Beschreibung des Überdruckapparates). Die Anwendung von Morphium ist bei den jun-

gen Hunden nicht ratsam. Sehr leicht kommt es unter dessen Einwirkung zu Atmungsbehinderung und späterhin zu tödlicher Pneumonie. Nach Abgrenzung des Operationsgebietes mittelst steriler Tücher erfolgt der Hautschnitt. Dieser nimmt 2 *cm* über der Incisura jugularis sterni seinen Anfang und führt bis zur Höhe der 7. Rippe nach unten. Es ist darauf zu

Fig. 180.

Intubations-maske



Modifizierter *Volhard*scher Überdruckapparat mit Intubationsmaske im Gebrauch. Die Maske ist über den Kopf des Hundes gestülpt und am Halse geschlossen; sie ist prall mit Luft gefüllt

achten, daß der Schnitt genau in der Mittellinie verläuft, die sich an der Raphe des Sternums abtasten läßt. Nach Durchtrennung der oberflächlichen Fascie werden die Musculi sternocleidomastoidei an ihrer Ansatzstelle am Manubrium sterni scharf durchschnitten und nach oben geschlagen. Die Musculi sternohyoidei werden stumpf mit der Pinzette auseinandergedrängt

und mit stumpfen Dreizinkern zur Seite gehalten. Es repräsentiert sich nunmehr der untere Pol der Schilddrüse, die Trachea mit dem prätrachealen Raum und der obere Pol des Thymus. Dann wird das Sternum von oben nach unten bis zur Höhe der 7. Rippe mit einem Knochenmesser durchschnitten. Es ist äußerst gefahrvoll, den Knochenschnitt schräg anzulegen, da auf diese Weise die Arteria mammaria interna sehr leicht verletzt werden und eine tödliche Blutung entstehen kann. Die beiden Sternumhälften werden von dem Assistenten mit scharfen Dreizinkern auseinander gezogen. Die Wunde muß so weit klaffen, daß das Mediastinum anticum und das Herz gut übersehbar sind. Bei stärkerem Auseinanderziehen der Sternumhälften geschieht es gewöhnlich, daß ein Mediastinalblatt einreißt und die Lunge prolabiert. In diesem Falle versucht sie der Assistent mit dem Finger zu reponieren und einen weiteren Vorfall zu verhindern. Nun erfolgt die Entwicklung des Thymus. Man geht dabei so vor, daß man stets von links her beginnend unter scharfer Kontrolle der Augen den linken kaudalen Thymuszipfel mit einer chirurgischen Pinzette erfaßt und sukzessiv mit einer anatomischen Pinzette die Drüse vom Perikard, der Pleura, den großen Gefäßen und ihren Verzweigungen löst. Die Isolierung des Corpus des Thymus ist besonders sorgfältig vorzunehmen, da hierbei leicht die Vena subclavia verletzt wird. Nach Lösung der linken Seite wird die der rechten Seite auf dieselbe Weise vorgenommen. Die Hauptaufgabe des Assistenten während der Entwicklung der Drüse besteht darin, die eventuell prolabierenden und in das Operationsfeld drängenden Lungen zurückzuhalten. Die Entfernung des oralen Thymusteiles geht gewöhnlich ohne größere Schwierigkeiten von statten. Es könnten sich solche höchstens einstellen bei der Lösung der zwischen den Gefäßen liegenden Thymusfortsätze und der Isolierung der eventuell auf eine kurze Strecke intraparenchymatös verlaufenden Arteria mammaria interna. Nach vollendeter Thymusexstirpation ist es unbedingt erforderlich, nochmals genau nachzusehen, ob nicht in den mediastinalen Buchten oder auf dem Herzbeutel Drüsenreste zurückgeblieben sind. Derartige geringste Reste können, wie bereits betont, den ganzen Erfolg der Operation nichtig machen. Nun erfolgt der Schluß der Wunde: Vereinigung der Sternumhälften mittels starker Seidenknopfnähte. Vereinigung der Musculi sternohyoidei durch Catgutknopfnähte. Annähen der Musculi sternocleidomastoidei an ihre Ansatzstelle am Manubrium sterni. Fasziennaht, Hautnaht mit Seidenknopf- oder Drahtnähten. Die Wundversorgung muß recht sorgfältig sein, da ein möglichst luftdichter Abschluß hergestellt werden muß. Dies ist maßgebend für den postoperativen Verlauf. Die äußere Wunde wird mit Jodoform-Kollodium bestrichen und ein Heftpflasterverband angelegt.

C. Nachbehandlung.

Die Nachbehandlung gestaltet sich einfach. Die operierten jungen Tiere sind sofort nach dem Eingriff wieder an die Mutterbrust zu bringen.

Die Wunde muß nach Möglichkeit rein gehalten werden. Denn eine Infektion führt leicht zu Empyem, an dem die Hunde sehr rasch zugrunde gehen. Nach ca. 8—10 Tagen werden die Hautnähte entfernt.

2. Die Thyreoidektomie.

A. Topographische Anatomie der Schilddrüse des Hundes.

Die Schilddrüse des Hundes besteht wie beim Menschen aus zwei Seitenlappen, die durch eine schmale Brücke, den sog. Isthmus oder die Pars intermedia, miteinander verbunden sind. Diese Querverbindung fehlt jedoch bei den meisten Hunden, nur bei den großen Tieren ist sie mit einiger Deutlichkeit zu erkennen. Die beiden Schilddrüsenlappen sind relativ groß, in die Länge gezogen und verjüngen sich nach den Enden zu. Sie flankieren den obersten Abschnitt der Trachea und reichen bis zu den Schildknorpelplatten. Zuweilen umgreifen sie die Luftröhre in geringem Umfange, so daß ihre Lage als lateral-dorsal von der Trachea zu bezeichnen ist. Seitlich wird die Drüse von dem Musculus sternocleidomastoideus, ventral vom Musculus sternothyreoideus und -hyoideus überlagert. An dem dorsolateralen Drüsenrande verläuft die Arteria carotis communis mit dem Nervus vagus und dem Sympathicus. Hinter der Schilddrüse, zwischen der Trachea und dem Oesophagus, zieht der Nervus recurrens nach oben. Sehr beachtenswert ist der Gefäßreichtum der Drüse. 4—5 Arterien — die beiden Arteriae thyreoideae superiores und inferiores und zuweilen eine Arteria thyreoidea ima — besorgen den Zufluß, ein reichliches Venengeflecht den Abfluß. Die Arteria thyreoidea superior nimmt ihren Ursprung aus der Carotis, die Arteria thyreoidea inferior aus dem Truncus thyreocervicalis; unter der Carotis hervorkommend, zieht sie zur Glandula thyreoidea. Auch an Lymphgefäßen ist das Organ sehr reich; diese treten in Lymphknoten ein, die sich ober- oder unterhalb der Isthmusstelle befinden und besonders bei sehr jugendlichen Tieren eine relativ beträchtliche Größe erreichen, so daß sie zuweilen zu Verwechslungen Anlaß geben. Die Versorgung mit Nerven ist spärlich. Sie stammen teilweise aus dem Ganglion cervicale superius und medium, teilweise sind es Äste des Nervus laryngeus superior.

Es ist von großer Wichtigkeit, daß die Epithelkörperchen, die Glandulae parathyreoideae — kleine, braunrote Gebilde von Stecknadel- bis Erbsengröße —, dem oralen Ende der Schilddrüse fest anliegen. Eine reine Isolierung dieser Körper ist nur schwer möglich. Entweder läßt man mit ihnen Reste des Schilddrüsenparenchyms zurück oder man entfernt sie mit der Drüse.

Schließlich ist noch zu bemerken, daß zuweilen akzessorische Schilddrüsen — Glandulae thyreoideae aberrantes — vorkommen. Solche Parenchymabsprengungen hat man in dem ganzen Bezirk zu suchen, der sich von der Aortenwurzel bis zum Unterkieferrande erstreckt.

B. Operationstechnik.

Das Operationsfeld — der ganze Hals vom Kieferwinkel bis zum Jugulum — wird, wie beschrieben, vorbereitet, das Tier wie bei der Thymektomie gelagert und eine leichte Morphium- oder Äthernarkose eingeleitet. Der in der Mittellinie anzulegende Schnitt beginnt in der Höhe des Schildknorpels und reicht fast bis zum Jugulum. Nach Durchtrennung der Haut und der oberflächlichen Halsfaszie werden die Musculi sternohyoidei mit einer Pinzette auseinandergedrängt und von dem Assistenten mittels stumpfer Dreizinker zur Seite gehalten. Unter Benutzung zweier anatomischen Pinzetten dringt man stumpf bis zum Kehlkopf und der Trachea vor, die von Bindegewebe peinlich gesäubert werden. Nun sucht man auf beiden Seiten die Carotis auf, dicht neben der Luftröhre in die Tiefe gehend. Die Halsschlagader wird nach oben bis über die Abgangsstelle der Arteria thyreoidea superior, nach unten bis über die Kreuzungsstelle von Carotis und Arteria thyreoidea inferior sorgsam freipräpariert. Dann werden die oberen und unteren Schilddrüsenarterien dicht am Stamme der Carotis mit Péans gefaßt, mit starken Seidenfäden ligiert und mit einer Schere durchschnitten. Vor einer peripheren Unterbindung muß ausdrücklich gewarnt werden, da hierbei die Gefahr der Recurrensverletzung sehr groß ist. Nachdem so die zuführenden Schilddrüsengefäße unterbunden und durchtrennt sind, löst man das Organ mit der Kapsel scharf aus seinem bindegewebigen Lager. Besondere Sorgfalt muß man auf die Loslösung der hinteren Drüsenfläche verwenden und darauf achten, daß die Intaktheit des Nervus recurrens gewahrt wird. Auf diese Weise läßt sich die Thyreoidea ohne jede größere Blutung exstirpieren. Das wenige Blut, das unter Umständen ausfließt, stammt rückläufig aus den Venen. Nunmehr wird die Operationswunde mit einem Tupfer sorgfältigst ausgewischt und nach eventuell stehen gebliebenen Drüsenresten oder akzessorischen Drüsen geforscht. Sind solche vorhanden, so werden sie auf dieselbe Weise wie die Hauptdrüse entfernt, indem zuerst die zuführenden Gefäße unterbunden werden. Die Wundversorgung geschieht mittels der Etagennaht mit Seidenfäden. Zunächst erfolgt die Vereinigung der durchtrennten prätrachealen Muskeln, dann die Naht der oberflächlichen Halsfaszie und schließlich die Hautnaht. Hier legt man zweckmäßig einige Drahtnähte zwischen die Seidennähte. Die äußere Wunde wird mit Jodoformkollodium bedeckt und ein Heftpflaster- oder ein leicht komprimierender Verband angelegt.

3. Die Splenektomie.

A. Topographische Anatomie der Milz des Hundes.

Die Milz des Hundes ist ein langgestrecktes, schmales, plattes Organ, dessen Länge die Breite um das Vierfache übertrifft. Die Enden sind abgerundet, die Ränder stumpf. Die Form weist große Variationen auf: bald

ist sie in ihrem ganzen Verlaufe gleich breit, bald zeigt sie in der Mitte eine Einschnürung, bald hat sie die Gestalt eines Dreiecks, dessen Basis die breite Ventral-, dessen Spitze die schmale Dorsalfläche bildet. Die Milz schmiegt sich der Bauchwand eng an. Infolgedessen ist ihre parietale Fläche konvex, die viszerale konkav. Die letztere weist eine schwache Erhabenheit, eine Leiste auf, die der Milzfurche, dem Hilus lienalis des Menschen entspricht. Hier verläuft die sich stark aufsplitternde Milzarterie und Milzvene. Die Milz liegt im linken Hypochondrium schräg dorsoventral und extraomental. Das ventrale Ende überragt nach dem Becken zu ziemlich bedeutend die letzte Rippe und liegt je nach dem Grade der Magenfüllung in der Höhe des 2.—4. Lendenwirbels. Das dorsale Ende befindet sich in der Höhe des letzten Brust- und ersten Lendenwirbels zwischen Zwerchfell, Magen und linker Niere. Die parietale Milzfläche schmiegt sich der Bauchwand an, die viszerale Fläche reicht normalerweise an die linke Niere, das Kolon und Dünndarmschlingen; ist der Magen prall gefüllt, so berührt sie diesen. Der thorakale Rand liegt in der Höhe der letzten Rippe am Magen, der Beckenrand ist frei. Von Bändern ist nur das Ligamentum gastro-lienale zu erwähnen.

Die gegebene Schilderung bezieht sich auf die am häufigsten angetroffenen, deshalb normalen topographischen Verhältnisse. Man muß aber bei der Milz stets damit rechnen, daß man sie atypisch gelagert findet. Ferner ist zu beachten, daß man beim Hunde fast immer Nebenmilzen, lienes accessorii, findet, die oft winzig klein, oft eine beträchtliche Größe erreichen. Diese Nebenmilzen, zuweilen 3—4 an der Zahl, trifft man im Ligamentum gastro-lienale, eventuell in der Substanz des Pankreas, am häufigsten jedoch im großen Netz an.

B. Operationstechnik.

Der gut narkotisierte Hund wird auf den Rücken oder leicht auf die rechte Seite gelagert, die linke hypochondrische und mesogastrische Gegend in der beschriebenen Weise zur Operation vorbereitet und mit sterilen Tüchern gegen die Umgebung abgegrenzt. Der Hautschnitt verläuft parallel dem Rippenbogen. Nach scharfer Durchtrennung der Muskulatur erfolgt die Eröffnung der Bauchhöhle. Diese wird so ausgeführt, daß man in das Peritoneum ein kleines Loch schneidet, von dem aus man mit einer geknöpften Knieschere nach beiden Seiten hin den Schnitt führt. Der obere und untere Schnittrand wird mit Peritonealklemmen fixiert. Nach genauer Orientierung über die Lage der Milz sucht man zunächst das Ligamentum gastro-lienale auf; dieses wird durchtrennt, indem man es doppelt unterbindet und zwischen den Ligaturen durchschneidet. Nun schreitet man zur Durchtrennung des Milzhilus, die blutlos ausgeführt werden muß. Zu diesem Zwecke zieht man die Milz etwas nach außen und unterbindet entweder den Milzstiel mit starken Seidenfäden doppelt en masse, oder, was empfehlenswerter ist, man unterbindet schichtweise, d. h. man erfaßt jedes Ge-

fäß mit zwei Péans, ligiert es doppelt und schneidet zwischen den Fäden durch. Ist die Milz exstirpiert, so tupft man das Operationsgebiet sorgfältig aus und sieht nach, ob nicht irgend ein Gefäß blutet. Jede intraperitoneale Blutung muß unbedingt vermieden werden. Aus diesem Grunde ist auch darauf zu achten, daß die Kapsel der Milz unverletzt und damit jede Parenchymblutung ausgeschlossen bleibt. Nach der Entfernung der Hauptmilz sucht man nach den Nebenmilzen. Diese werden auf dieselbe Weise — primäre Gefäßversorgung — exstirpiert. Ist man gezwungen, solche akzessorische Organe aus dem Netz zu lösen, so muß das entstehende Netzloch peinlichst genäht werden, damit hier kein Darm durchfällt und ein Ileus auftritt. Das Peritoneum wird mittels fortlaufender Seidennaht geschlossen. Bei der Muskelnaht verwendet man zweckmäßig Catgutknopfnähte, bei der Hautnaht Seiden- resp. Draht-Knopfnähte. Die Wunde wird mit Jodoformkollodium bestrichen und ein Heftpflasterverband angelegt.

Nach 8—10 Tagen werden die Nähte entfernt.

Die Methodik der Dauerfisteln des Magendarmkanales.

Von **Otto Cohnheim**, Heidelberg.

Die Methode der Dauerfisteln besteht darin, daß eine Stelle des Magens oder Darmes an die Bauchwand fixiert und hier eine verschließbare Kanüle in den Magen oder Darm eingeheilt wird. Ist die Kanüle verschlossen, so geht der Magen- oder Darminhalt innen an der Kanüle vorbei und die Verdauung verläuft wie bei einem normalen Tier. Öffnet man die Kanüle, so entleert sich aller Inhalt, der an die betreffende Stelle kommt, nach außen.

Die Magenfisteln sind seit alters angelegt worden, aber durch *Pawlows* Methodik [1]) zu neuen Ehren gekommen. Darmfisteln sind abgesehen von vereinzelten früheren Versuchen zuerst von *Pawlow* angegeben worden, die Methodik ist aber im Laufe der letzten Jahre von dem Verfasser und seinen Mitarbeitern ausgebildet und geändert worden. [2])

Auswahl und Halten der Hunde.

Die Fistelversuche sind bisher fast ausschließlich am Hunde angestellt worden, bei kleinen Tieren, wie dem Kaninchen, ist der Darm zu dünn und zerreißlich, und Versuche an großen Tieren sind bisher aus äußeren Gründen unterblieben. Über die Ziege siehe unten. Der Hund hat den Vorteil, daß seine Nahrung der des Menschen im allgemeinen ähnelt,

---

[1]) *J. F. Pawlow,* Ergebnisse der Physiologie. I. Biochemie. S. 246. Darmfisteln. S. 272 (1902).

[2]) *L. Tobler,* Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. **45**. S. 185 (1905). — *O. Cohnheim,* Münchener med. Wochenschr. 1907. S. 2581. — *O. Cohnheim* und *G. L. Dreyfus,* ibid. 1908. S. 2484. — Dieselben, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. **58**. S. 50 (1908). — *O. Cohnheim* und *F. Marchand,* ibid. Bd. **63**. S. 41 (1909). — *R. Baumstark* und *O. Cohnheim,* ibid. Bd. **65**. S. 477 und 483 (1910). — *F. Best* und *O. Cohnheim,* ibid. Bd. **69**. S. 113. 117. 120 und 125 (1910). — *O. Cohnheim* und *G. Modrakowski,* ibid. Bd. **71**. S. 273 (1911). — *O. Cohnheim* und *P. Klee,* ibid. Bd. **78**. S. 464 (1912). — *O. Cohnheim,* Zeitschrift f. biol. Techn. u. Method. Bd. **1** (1909). — *F. Best* und *O. Cohnheim,* Münchener med. Wochenschr. 1911. Nr. 51. — *F. Best,* Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. **104**. S. 94 (1911). — *F. Best,* Habilitationsschrift. Rostock 1912. — *L. Kloemann,* Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. **80**. S. 17 (1912). — *F. Best* und *Gaither,* Arch. f. Verdauungskrankh. (1911). — *O. Cohnheim,* Arch. f. Hyg. Bd. **57**. S. 401 (1906).

und daß es von allen Tieren am leichtesten ist, ihn abzurichten und mit ihm umzugehen. Magen- und Darmfisteln sind an Hunden von jeder Größe bis herab zu 4 *kg* angelegt worden.[1]) Erfordert aber nicht ein bestimmter Versuchszweck die Benutzung kleiner oder sehr großer Hunde, so ist es empfehlenswert, Hunde von 20—30 *kg* zu benützen. Kleine Hunde halten sich schlecht und ein guter Teil von ihnen geht in wenigen Wochen zugrunde. Auch hat der Magen eines Hundes von etwa 25 *kg* ungefähr die Fassungskraft des menschlichen Magens und entleert sich in etwa der gleichen Zeit wie dieser. Bei allen Versuchen, bei denen ein Anschluß an die menschliche Physiologie oder Pathologie erwünscht ist, wird man schon deshalb Hunde in dieser Größe wählen. Magenfisteln, tiefe Duodenalfisteln, Dünn- und Dickdarmfisteln sind bei Hunden jeder Rasse anzulegen. Bei hohen Duodenalfisteln ist es dagegen gut, breitbrüstige Tiere, etwa von der Art der Boxer zu wählen, und nicht etwa schmalbrüstige von der Form der Windhunde. Für Operationen am Gallengangsystem haben Boxer einen sehr günstigen Situs, ebenso Dackel, die allerdings meist zu klein sind. Das Geschlecht der Hunde ist gleichgültig. Hält man Hunde und Hündinnen durcheinander im Stalle, so wird man allerdings in der Regel erleben, daß die Hündinnen trächtig werden. Denn die Fortpflanzung der Tiere wird durch die Dauerfistel in keiner Weise gestört. Wir haben Laboratoriumsenkel erlebt, deren Eltern und Großeltern schon Kanülen trugen. Vorsichtig muß man gegen Hunde mit Räude und ansteckenden Hautkrankheiten sein, gegen andere ansteckende Krankheiten, von denen Pneumonien einem in kurzer Zeit den ganzen Stall zum Aussterben bringen können, wird man sich kaum schützen können.

Bevor man einen Hund operiert, ist es wünschenswert, sich davon zu überzeugen, daß es sich um ein zahmes, gutartiges, gehorsames Tier handelt. Seit wir die psychischen Einflüsse auf Bewegung und Sekretion der Verdauungsorgane kennen, müssen wir alle Versuche verwerfen, bei denen die Tiere gefesselt werden müssen, sich sträuben oder widerspenstig sind. Aus dem gleichen Grunde ist es wünschenswert, den Tieren außer der Versuchszeit recht günstige Bedingungen zu gewähren. Sie sollen den Tag über im Freien sein, häufig gewaschen und gestriegelt werden und der Experimentator soll sich viel mit ihnen befassen. Als Futter an versuchsfreien Tagen diene ein Gemisch von Hundekuchen mit Küchen- oder Schlachthausabfällen. Als Raubtier zeigt der Hund keine Gleichmäßigkeit der Nahrungsaufnahme. Von einem Futter, das ihm schmeckt, ist er imstande, eine geradezu erstaunliche Masse auf einmal zu fressen. Füttert man einen Hund etwa mit Fleisch oder mit fetten Schlachthausabfällen in beliebiger Menge, so kann sich die Entleerung des Magens über einen Tag hinziehen, und da man bei Beginn der meisten Versuche Magenleere braucht, so ist das zu berücksichtigen. In dieser Beziehung kann man überhaupt bisweilen merkwürdigen Überraschungen ausgesetzt sein.

---

[1]) *O. Cohnheim,* Arch. f. Hyg. Bd. 57, S. 401 (1906).

I. Operationstechnik.

Vorbereitung zur Operation.

Bei Magenoperationen sollten die Hunde nüchtern sein, bei Darmoperationen ist das kaum nötig. Vorheriges Baden oder Waschen ist ganz überflüssig. Auch von jeder besonderen Desinfektion des Operationsraumes kann man ruhig absehen, ich operierte jahrelang in der Küche einer ehemaligen Arbeiterwohnung. Eine halbe Stunde vor der Operation erhalten die Hunde subkutan eine große Dosis Morphium, je nach der Größe 12—16 *cg*, 3—4 *cm*³ einer 4%igen Lösung. Auf diese Injektion brechen und koten sie in der Regel und verfallen in einen Schlafzustand, in dem sie leicht aufzubinden sind. Nur bei Operationen, bei denen man einen Pneumothorax setzt, muß man Morphium vermeiden. Denn in diesen großen Dosen setzt Morphium die Erregbarkeit des Atemzentrums soweit herab, daß die erforderliche kompensatorische Mehrarbeit der anderen Lunge nicht eintritt und die Tiere nach der Operation leicht zugrunde gehen.

Als Operationstisch ist am bequemsten ein hoher Holztisch von 50 *cm* Breite, in dessen Platte sich eine größere Anzahl von Löchern von 2½ *cm* Durchmesser befinden, und der an seiner Außenseite 4 oder 6 selbsttätig haltende Rouleauklammern trägt. Man befestigt ein breites Band an jedem Bein des Tieres, zieht die Bänder durch eines der Löcher und fixiert sie in den Klammern. Die Vorderbeine können neben dem Thorax liegen oder nach oben geschlagen sein. Bei der letzteren Haltung ist die obere Bauchgegend bei schmalbrüstigen Tieren besser zugängig. Von einem Kopfhalter sieht man besser ab, da er die Narkose stört. Ein heizbarer Operationstisch ist überflüssig, da Hunde bei Laparatomien Abkühlung ohne Schaden ertragen.

Die Operation. Allgemeines.

Zur Narkose bedient man sich am besten zylindrischer Blechgefäße von einem halben bis einem Liter Inhalt, die am Boden Löcher haben und in die ein großer Wattebausch hereinkommt. Man nimmt zweckmäßig Äther, braucht aber nach den großen Morphiumdosen sehr wenig Äther. Eigentlich nur während des Bauchschnittes und beim Hervorziehen der Organe, etwa des Magens, muß etwas mehr aufgegossen werden. Im späteren Verlaufe der Operation genügen oft wenige Tropfen für eine halbe Stunde. Bei länger dauernden Operationen, zumal am Dünndarm, und wenn viel mit dem Darm hantiert wird, schlafen die Hunde ohne jedes Narkotikum, vermutlich weil sich das Blut in den Darmgefäßen ansammelt. Die Physiologen der vorchirurgischen Zeit haben hiervon bekanntlich ausgedehnten Gebrauch gemacht. Narkosentodesfälle brauchen nicht vorzukommen.

Zum Nähen benutzen wir ausschließlich Zwirn, für die meisten Operationen Leinenzwirn Nr. 12, nur für feinere Nähte, Darmanastomosen usw. feineren Zwirn Nr. 50. Im übrigen benutzt man die üblichen chirurgischen

Instrumente und verfährt auch sonst nach den allgemeinen chirurgischen Regeln. Tupfer, Kompressen, Tücher usw. werden in Dampf sterilisiert. Instrumente und Zwirn in Sodalösung gekocht. Das Operationsfeld wird rasiert und mit Jodtinktur behandelt. Die Hände werden gründlich mit Wasser und Seife gewaschen, dann mit Alkohol und Sublimat. Handschuhe, Bartbinden und Mützen haben wir bisher nicht verwendet, und auch kein Bedürfnis nach einer weiteren Vervollkommnung der Asepsis empfunden. Die Chirurgen werden mir darin Recht geben, daß es sehr viel mehr auf schnelles Operieren, gute Blutstillung und sonstige gute Technik ankommt, als auf diese äußerste Vervollkommnung der Asepsis. Auch ist daran zu erinnern, daß man wohl die übrige Bauchhöhle vor jeder Infektion schützen kann, daß aber die Eröffnung des Darmes und die Einführung einer Metallkanüle, die den Darm mit der Außenwelt verbindet, nicht eigentlich aseptisch vor sich gehen kann. Die Hunde werden mit mehreren sterilen Tüchern zugedeckt, die entsprechend dem Operationsfelde ein umsäumtes Loch haben und die man am besten mit einigen Nähten an dem Hund fixiert. Das zu isolierende Operationsfeld umfaßt neben der Stelle des Bauchschnittes die Stellen, wo Kanülen und Haltefäden hinkommen (siehe unten).

Die Lage des Bauchschnittes richtet sich nach der Art der Operation. Querschnitte haben uns immer schlechte Resultate gegeben, da bei dem Laufe des Vierfüßlers die Bauchhaut gedehnt wird und die Hautwunde platzt. Für den Längsschnitt wird man im unteren Teile des Bauches am besten die Linea alba wählen. Im oberen Teile des Bauches ist das aber nicht zweckmäßig, weil hier am Peritoneum genau in der Mittellinie eine Fettschürze befestigt ist, die bei fettreichen Hunden die exakte Peritonealnaht erschwert. Bei Duodenal- und Magenfisteln mache ich den Schnitt 1—2 Finger breit rechts von der Mittellinie und gehe dann der Länge nach durch den M. rectus abdominis. Nur bei Hündinnen mit stark entwickelten Milchdrüsen kommt man beim Verlassen der Mittellinie in ein solch dichtes Venennetz, daß es sich empfiehlt, den Hautschnitt in die Mittellinie zu legen. Man zieht dann die Haut beiseite und durchtrennt Muskeln und Peritoneum etwas seitlich. Übrigens trifft man auch gelegentlich in der Mittellinie im Unterhautzellgewebe auf stark entwickelte Venen. Bei dem Bauchschnitt ist sorgfältige Blutstillung wünschenswert. Im Unterhautzellgewebe fasse man auch die kleinsten blutenden Stellen und unterbinde oder torquiere sie, sonst sickert während der ganzen Operation Blut nach und die glatte Heilung des Bauchschnittes scheint dabei nicht so gut zu sein, wie wenn man völlig trocken operiert. Kleine Blutungen im Muskel braucht man häufig nur zu fassen und kann die Klammern oder Schieber liegen lassen, die Blutung steht dann in der Regel ohne Unterbindung. Bei Durchtrennung des Peritoneums und der dünnen ihm anliegenden Muskelschicht blutet es gewöhnlich kaum. Nach Eröffnung der Bauchhöhle wird das gewünschte Organ hervorgezogen und die übrige Bauchhöhle durch große Kompressen abgedeckt.

Nach Beendigung der Operation wird die Bauchhöhle durch eine exakte Etagennaht geschlossen. Das Peritoneum wird fortlaufend genäht, in der Regel zusammen mit der untersten Muskelschicht. Ebenso wird der Rectus fortlaufend genäht. Bei seitlichen Bauchschnitten, etwa in der Flankengegend, wo man auf mehrere Muskellagen stößt, empfiehlt es sich, jede Lage für sich zu nähen. Ins Unterhautzellgewebe empfiehlt es sich zur Entspannung der Haut einige Einzelnähte zu legen. Die Haut vereinige ich nach *Pawlows* Vorgange immer durch Einzelnähte, die die Haut nicht durchstechen. Einen Verband kann man Hunden nicht gut anlegen. *Pawlow* schreibt vor, die Wunde mit einem Kollodiumverband zu bedecken. Ich habe aber auch damit schlechte Erfahrungen gemacht und sehe seit Jahren von jedem Verband ab. Infolgedessen muß man damit rechnen, daß die Hunde mit den Zähnen oder der Zunge an die Hautnaht herangehen und muß die Knoten so legen, daß sie nicht aus der Haut herausragen, d. h. eine intrakutane Naht machen. Man stößt auf die Kante der einen Seite ein und zur Kante der anderen Seite heraus. Aus demselben Grunde, um bei einer etwaigen Beschädigung durch das Tier das Aufplatzen der ganzen Hautwunde zu verhüten, nähe ich auch immer mit Einzelnähten. Die Operation dauert so ein paar Minuten länger, als wenn man fortlaufend und mit Durchstechung der Haut nähen würde, aber diese paar Minuten lohnen sich reichlich durch die sichere Heilung der Hautwunde per primam. Die Fäden werden nicht entfernt. Platzt übrigens die Hautwunde doch einmal auf, so ist das auch kein Unglück, sie granuliert gewöhnlich gut zu, wobei man durch Dermatol oder Ätzen mit Argentum nachhelfen kann. Doch bedingt ein solcher Zufall natürlich eine erhebliche Verzögerung der Wundheilung.

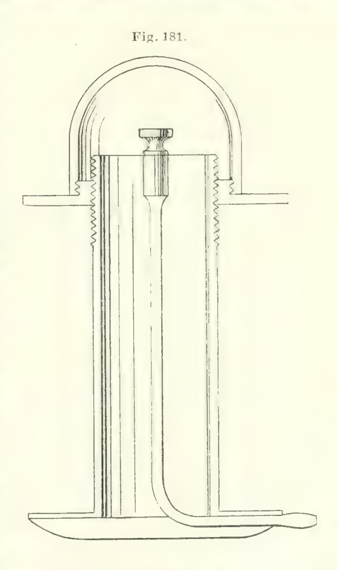
Nach der Operation kommen die Hunde im Sommer einfach auf ihr Strohlager im Stalle, im Winter werden sie in Tücher eingewickelt und an den Ofen gelegt; doch kommt es nicht selten vor, daß die Hunde einige Zeit nach der Operation einen länger dauernden Erregungszustand bekommen, so daß sie nicht liegen bleiben. Am Operationstage bekommen die Hunde nichts, am folgenden Tage Wasser, am nächsten Tage Wasser und Milch. Von da an können sie alles fressen, nur empfiehlt es sich, in der ersten Zeit Knochen zu vermeiden, da sich dieselben an der Kanüle verhaken können und bei der noch dünnen Narbe ein Unglück geschehen kann.

Duodenalfistel.

Das Prinzip der Methodik ist von *Pawlow* ausgearbeitet worden, der nach dem Vorschlage von *Dastre* die Darmkanülen in den Darm einheilte und durch eine besondere Öffnung nach außen führte, sie also nicht in dem Bauchschnitt fixierte. Wir haben dieses Prinzip von *Dastre-Pawlow* beibehalten, auch als wir die dünnen Kanülen von *Pawlow* durch sehr weite Kanülen ersetzten. Dazu ist es nötig, daß die Kanülen auseinandernehmbar sind.

Die Duodenalkanüle hat folgende Form (Fig. 181): Sie hat wie alle zu besprechenden Kanülen 2 Scheiben, von denen die eine in das Innere des Darmes kommt, die andere sich außerhalb des Tieres befindet. Die letzte Scheibe ist abschraubbar. Die Kanüle hat ein Lumen von 18 *mm* Durchmesser. Ich würde mich auch nicht bedenken, bei großen Hunden noch weitere Kanülen anzuwenden. Bei Hunden der angegebenen Größe genügt aber diese Weite, um sicher zu sein, daß aller Duodenalinhalt nach außen fällt. Die innere Platte ist oval und ein wenig von der Kanüle abgebogen. Der Durchmesser der Scheibe ist 27—34 *mm*. Die Kanüle ist 6 *cm* lang. Es scheint das sehr lang zu sein und unmittelbar nach der Operation ragt die Kanüle, außer bei sehr fetten Hunden, in der Tat weit heraus. Im Laufe der Zeit verdickt sich aber der Narbenring, den Darmwand und Bauchwand um die Kanüle bilden, mehr und mehr. Kürzere Kanülen ragen dann immer weniger heraus, bis schließlich die äußere Platte auf der Haut scheuert. Andrerseits stört das Herausragen der Kanüle auch in der ersten Zeit so wenig, daß es sich dringend empfiehlt, keine kürzeren Kanülen zu benutzen. Die äußere Scheibe hat einen Durchmesser von 49 *mm*. Auf ihr befindet sich, wie auf der Kanüle selbst, ein Gewinde, auf das eine Kappe zum Schutze des äußeren Kanülenendes aufgeschraubt werden kann. Im Innern der Kanüle läuft ein kleines Röhrchen, das nach außen hin mit dem Rande der Kanüle abschneidet. Nach innen steht es etwa 1 *cm* über den inneren Kanülenrand hervor und trägt hier eine Olive. Das äußere Ende kann entweder durch ein Schräubchen verschlossen werden, oder es kann eine kleine durchbohrte Olive hereingeschraubt werden. Die Kanüle wird so in den Darm eingeführt, daß das Ende des inneren Röhrchens nach abwärts, d. h. analwärts sieht und an das innere Ende des Röhrchens wird ein Gummischlauch befestigt, der also nach Einführung der Kanüle im Darm liegt und gestattet, durch das Röhrchen Flüssigkeiten abwärts von der Kanüle in den Darm einzuführen. Ich nehme einen Gummischlauch von 4 *mm* Lumen, 7 *mm* Gesamtdicke. Der Gummischlauch soll etwa 50 *cm* lang sein, da man sonst leicht erlebt, daß das, was man in die Kanüle einspritzt, nicht ganz im Darm bleibt, sondern teilweise zurückläuft. Beim Hunde ist das Duodenum leicht beweglich. Der Übergang des Duodenums in das Jejunum ist dagegen ohne Mesenterium an der Rückwand des Bauches fixiert. Das

Fig. 181.



Duodenum steigt also von der Fistel nach oben und der Schlauch muß infolgedessen so lang sein, daß er über diese Anheftungsstelle herausreicht. Die Kanüle besteht aus vernickeltem Messing und ist so dünn, daß sie gerade noch das Einschneiden des Gewindes gestattet. Die äußere Scheibe dagegen und die Kappe sind aus starkem Messing von 2 *mm* Dicke, sie dienen ja hauptsächlich dazu, das Ende der Kanüle und die Einspritzvorrichtung vor den Zähnen der Hunde zu schützen. Doch werden große Hunde bisweilen auch mit so starkem Messing fertig. Vor der Operation wird die Kanüle fest mit Watte verstopft.

Zur Einführung der Kanüle braucht man einen Troikart, in dessen Hülse die Kanüle gerade hereinpaßt. Der Troikart von 19 *mm* Durchmesser sieht sehr unförmlich aus, man wird sich aber leicht überzeugen können daß er gut arbeitet.

Meine Kanülen, sowie die sonstigen Instrumente, die zu ihrer Einführung nötig sind, sind alle von Herrn *Fr. Runne*, Rohrbach bei Heidelberg, angefertigt.

Bei der Entscheidung über den Ort der Duodenalfistel habe ich anfangs versucht, die Duodenalfistel möglichst hoch, d. h. möglichst nahe an den Pylorus zu legen. Ich hoffte, daß es möglich sein würde, sie so nahe an den Magen zu legen, daß nur der Mageninhalt nach außen fließt, Pankreassaft und Galle aber unterhalb von der Kanüle in den Darm laufen. Es ist mir das nur ein einziges Mal bei einem Hunde gelungen [1], der eine Kanüle dicht am Pylorus und eine zweite Kanüle einige Zentimeter weiter unterhalb trug. Bei diesem Hunde kam aus der oberen Kanüle Mageninhalt, aus der unteren Pankreassaft und Galle. Indessen war es auch bei diesem Hunde nur dann möglich, das Herausfließen von Pankreassaft und Galle aus der oberen Kanüle zu verhüten, wenn der Hund so auf den Tisch gestellt wurde, daß er mit dem Oberkörper schräg aufwärts stand und auch nicht in allen Versuchen. Außerdem hat man, wenn die Kanüle zu nahe am Pylorus liegt, mit der Schwierigkeit zu kämpfen, daß zwar die Magenreflexe erhalten sein können, die Darmreflexe aber nicht [2], und ich habe es seither zweckmäßig gefunden, von dieser hohen Lage der Kanüle abzusehen. Reinen Mageninhalt kann man auch anderweit erhalten (s. u.). [3] Ich habe es im Gegenteil für zweckmäßiger gefunden, die Kanüle so zu legen, daß mit Sicherheit nicht nur der Mageninhalt, sondern auch aller Pankreassaft, auch der des unteren Ganges, nach außen fließt, und lege die Kanüle etwa an die Stelle, wo der Schwanz des Pankreas' sich von dem Darme entfernt. Die Stelle des Pylorus hat beim Hunde nur ein ganz kurzes, bisweilen kaum angedeutetes Mesenterium und ist daher individuell übrigens recht verschieden, fixiert. Weiterhin ist das Duodenum dagegen an einem langen Mesen-

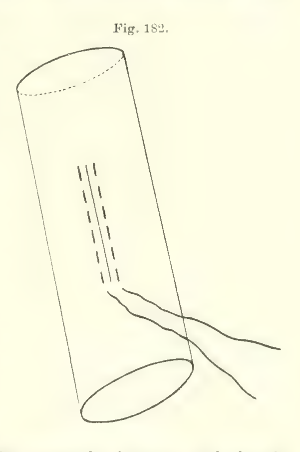
---

[1] *O. Cohnheim* und *G. L. Dreyfus*, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 58. S. 50 (1908).
[2] *F. Best* und *O. Cohnheim*, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 69. S. 113 (1910).
[3] *O. Cohnheim* und *P. Klee*, Ibid. Bd. 78. S. 464 (1912).

terium befestigt und sehr beweglich. Die Einführung an der geschilderten Stelle macht nie Schwierigkeiten.

Man zieht das Duodenum hervor und legt an die Stelle, an der die Fistel sitzen soll, eine Tabaksbeutelnaht, deren beide Schenkel recht nahe aneinander liegen (Fig. 182). Danach öffnet man innerhalb der Naht den Darm durch einen Längsschnitt. Die kleine Blutung braucht nicht gestillt zu werden, doch muß selbstverständlich wohl darauf geachtet werden, daß die übrige Bauchhöhle gut abgedeckt ist, und daß austretender Darminhalt sofort abgetupft wird. Es kann einem passieren, daß sich aus der Schnittstelle Eingeweidewürmer vordrängen. Einen Bandwurm ziehe man nicht heraus, sondern schiebe ihn abwärts.

Fig. 182.



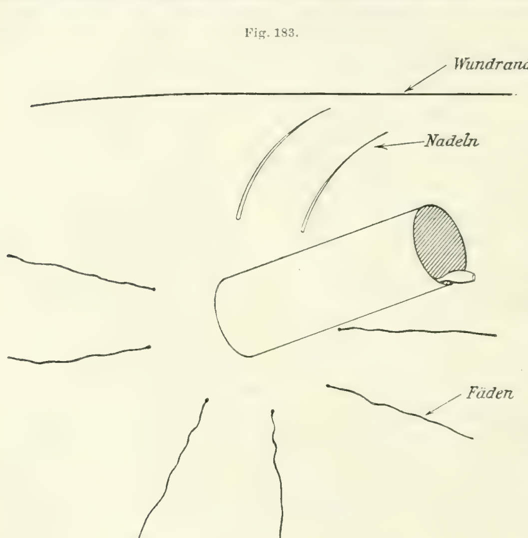
Man schiebt nun zunächst den Schlauch, der an der Kanüle befestigt ist, abwärts in den Darm herein, am besten hält einer die Kanüle und schiebt den Schlauch nach, während der andere durch streichende Bewegungen längs des Darmes für sein Fortgleiten und dafür sorgt, daß er nicht etwa Schlingen bildet. Schließlich wird die innere Platte der Kanüle in die Darmwunde hereingeschoben und die Tabaksbeutelnaht zugezogen und geknüpft. Die Enden des Fadens legt man am besten noch einmal um die Darmwunde herum und drückt damit die sich auskrempelnde Darmwand fest an die Kanüle an. Dann muß man noch Darmschleimhaut, die sich immer auf einer, bisweilen auf beiden Seiten der Kanüle auskrempelt, mit einem Messer sorgfältig abtragen.

Die Darmwunde muß mit Netz gedeckt werden. Man holt zu diesem Zwecke etwas Netz hervor, macht an einer gefäßfreien Stelle ein Loch und stülpt es über die Kanüle. Macht man nur eine Fistel an dem Tiere, so ist es gleichgültig, welches Netzstück man bekommt. Macht man außer der Duodenalfistel etwa noch eine Magenfistel oder eine tiefe Darmfistel, so muß man darauf achten, daß man genug Netz für beide Operationen behält. Man überzeuge sich dann, daß die Stelle des Darmes, an der die Kanüle sitzt, ringsum, auch weit von der Kanüle, vom Netz gedeckt ist, und daß besonders die Darmwunde ganz durch Netz eingehüllt ist. Häufig wird man gut tun, das Netz durch einige kleine Nähte am Darme zu fixieren. Oftmals genügen aber die gleich zu besprechenden vier Nähte. Nun legt man durch das deckende Netz 4 lange Nähte in den Darm, die durch Serosa und Muskularis durchgehen. Sie sollen an den 4 Seiten der Kanüle, oben, unten, rechts und links, sitzen, etwa einen $^1/_2$—1 *cm* von dem Kanülenrande entfernt. Die Fäden sollen 40 *cm* lang sein und bis zu ihrer Mitte

durchgezogen werden. Diese 4 Fäden dienen dazu, die Darmwand provisorisch an die Bauchwand anzuhaften, bis die Verklebung der Serosa eingetreten ist.

Nun sucht man sich die Stelle aus, an die die Kanüle kommen soll und führt 3 von den 4 Doppelfäden oben, außen und unten von diesem Punkt durch die Bauchwand nach außen. Zu diesem Zweck bedient man sich zweier langer, derber, schwach gekrümmter Nadeln, sie werden in die beiden Enden jedes der Fäden eingefädelt und, unter Leitung des linken Zeigefingers, etwa einen halben bis 1 *cm* voneinander entfernt von innen nach außen durch die Bauchwand durchgestoßen. Die Stellen, an denen die Fäden durch die Wand gehen, sollen ungefähr so weit von der Durchtrittsstelle der Kanüle abliegen, wie die Fäden im Darm (Fig. 183). Alsdann durchschneidet man an der Stelle, an die die Kanüle kommen soll, die Haut mit der Schere und stößt mit dem Troikart von außen nach innen durch. Die Stelle, an der die Spitze innen herauskommt, fixiert man sich vorher mit dem Zeigefinger der linken Hand; man denke daran, daß für die Durchführung des vierten Fadens und für die Peritonealnaht Platz bleiben muß, die Stelle soll daher mindestens 2 *cm* von dem Rande der Peritonealwunde entfernt sein. Das Durchstoßen des Troikarts geht bei jungen mageren Tieren leicht, besonders leicht bei trächtigen oder puerperalen Hündinnen, bei denen alle Gewebe aufgelockert sind. Bei alten Hunden bedarf es mitunter einer großen Kraftanstrengung. Hierzu ist wieder tiefe Narkose nötig. Dann zieht man den Troikart zurück und steckt die Kanüle von innen her in die Hülse des Troikarts, die man dann auch entfernt. Erst jetzt führt man den vierten Faden an der dem Schnitte zugewandten Kanülenseite durch die Bauchwand durch und knüpft die 4 Fäden. Man muß dabei darauf achten, daß der Darm fest an der

Fig. 183.



Bauchwand anliegt und nicht etwa eine freie Kanülenstrecke zwischen beiden bleibt. Dieses Anziehen besorgt man aber besser durch Ziehen an der Kanüle und nicht an den Fäden. Die Fäden schneidet man so ab, daß sie bequem zu fassen sind. Alsdann wird die Bauchwunde geschlossen und die äußere Scheibe und die Kappe auf die Kanüle aufgeschraubt. Es empfiehlt sich, außerhalb von der Scheibe einen Faden in das Gewinde der Kanüle zu legen, damit sich die Scheibe nicht etwa abdreht. Die Fäden werden am übernächsten Tage entfernt, wobei man natürlich darauf achten muß, den Knoten so zu durchschneiden, daß man den Faden auch wirklich herausbringt.

Was den Ort der Kanüle anlangt, so darf die Kanüle nicht zu sehr nach der Mittellinie hin liegen, weil es sonst unbequem ist, mit ihr zu arbeiten. Noch weniger darf sie aber zu sehr nach dem Rücken des Tieres liegen, da sonst allzu leicht Darminhalt an ihr vorbeipassiert. Ich habe es am zweckmäßigsten gefunden, etwa in der Mammillarlinie oder einen Finger breit außerhalb von ihr zu durchstoßen. Bei schmalbrüstigen Tieren kommt man leicht mit den untersten Rippen in Kollision. Die Kanüle muß natürlich unterhalb der untersten Rippe liegen; wenn der eine von den Fixationsfäden durch einen Zwischenrippenraum geht, schadet es nichts.

In der ersten Zeit nach der Operation sezerniert die Wunde, aus der die Kanüle herausragt, mehr oder weniger. Auch später findet man immer einmal einen dicken Tropfen Eiter an der Kanüle sitzen. Eine Bedeutung kommt dem nicht zu. In der ersten Zeit nach der Operation bestehen in der Bauchhöhle ausgedehnte Verwachsungen zwischen dem Darm, dem Peritoneum parietale, auch wohl anderen benachbarten Organen. Später lösen sie sich und es bleibt nur die zirkuläre Fixation des Darms rund um die Kanüle übrig. Sie ist ein Teil des derben festen Narbenringes, der, aus Bauch- und Darmwand gebildet, die Kanüle umgreift und von dessen Festigkeit man sich bei Sektionen überzeugen kann. Er schließt wasserdicht, so daß auch nicht ein Tropfen Darminhalt neben der Kanüle vorbeiläuft. Der Faden, der die Kanüle bei der Operation am Darm befestigt hatte, schneidet natürlich durch und liegt im Darm um die Kanüle herum. Er wird ebensowenig angegriffen, wie der Schlauch oder der Faden, der den Schlauch an die Kanüle befestigt. Übrigens werden auch Seidenfäden an dieser Stelle nicht angegriffen.

Die Hunde sind etwa nach 8 Tagen versuchsfähig, zur Not sogar schon früher, man tut aber besser, länger zu warten, bis die Narbe fester geworden ist. Beim Auf- und Zuschrauben der Kanüle muß man in der ersten Zeit sehr vorsichtig sein. Später haben die Hunde anscheinend kaum eine Schmerzempfindung in dieser Gegend.

Andere Darmfisteln.

Entsprechende Kanülen, wie in das Duodenum, kann man an jeder anderen Stelle des Darms einführen. Nur müssen sie, da sich der Dünndarm vom Duodenum abwärts immer mehr verjüngt, enger sein. Man

unterschätzt den Unterschied zwischen dem oberen und unteren Teil des Dünndarms leicht. selbst bei großen Hunden ist es nicht ratsam, im Ileum Kanülen von mehr als 8 *mm* Lumen zu benutzen. Die Platte der Kanüle, der im Darm liegende Schlauch und der Troikart müssen natürlich im selben Sinne kleiner sein. Beim Dickdarm könnte man an sich wohl weitere Kanülen benutzen. doch ist der Unterschied zwischen Dick- und Dünndarm beim Hunde ja lange nicht so groß, wie beim Menschen und die Muskulatur ist so kräftig, daß man mit der Einführung weiterer Kanülen ebenfalls Schwierigkeiten hat. Es ist besser, auch hier keine Kanülen von mehr als 8 *mm* Weite zu nehmen. Die Operation ist genau wie am Duodenum, nur wird man den Schnitt in der Regel mehr schwanzwärts machen. Die Ileokökalgegend findet man gewöhnlich in der Nähe des Duodenums, sie hat aber beim Hunde ein langes Mesenterium und infolgedessen keinen fixierten Platz. Die Prognose der Operationen im Ileum und im Dickdarm ist lange nicht so gut, wie der in den oberen Darmgegenden.

Bei den geschilderten Operationen, die dem Zwecke dienen, Darminhalt aufzufangen, liegt die Kanüle so, daß sie beim stehenden Hund nach abwärts sieht. Ich habe wiederholt versucht, an verschiedenen Stellen des Darmes Kanülen einzuführen. die nach oben gerichtet waren und die den Zweck haben sollten, etwas in den Dünndarm einzuführen. Die Methode hat sich nicht bewährt. Gerade nach oben kann man die Kanüle nicht anbringen und wenn die Kanüle schräg nach oben sieht, so drückt sie auf die eine Seite des Wundrandes und es kommt nicht zu einer glatten Einheilung. Auch wird die Kanüle nicht wie die nach unten gerichteten Kanülen durch die Schwere nach außen gezogen und es bildet sich infolgedessen zwischen der Bauchwand und dem an ihr fixierten Darme eine Tasche. Ich habe erlebt, daß eine andere Darmschlinge in diese Tasche hineinschlüpfte und das Tier an Ileus zugrunde ging, was bei den nach unten gerichteten Kanülen nie vorkommt.

Magenfistel.

Pawlow heilt die Magenkanülen in den Bauchschnitt ein und im Gegensatz zum Darm sind die Heilresultate gut. Der Nachteil ist aber, daß eine längere Zeit vergeht, bis die Kanüle sicher schließt und die Tiere versuchsfähig werden. Auch fällt die Kanüle relativ leicht heraus. Ich führe daher die Magenkanüle in genau derselben Weise wie die Darmkanülen mittelst seitlicher Durchstoßung ein. Die Kanülen haben die gleiche Weite wie die Duodenalkanülen, 18 *mm*, sie haben auch die gleiche Länge. Dagegen fehlt natürlich die Einspritzvorrichtung, die innere Scheibe ist rund und hat nach *Pawlows* Angaben einen Einschnitt, der es ermöglicht, sie in eine kleine Öffnung des Magens hereinzudrehen. *Pawlows* Silberkanülen habe ich auch beim Magen durch vernickelte Messingkanülen ersetzt, 1. weil es billiger ist und weil 2. in den Silberkanülen das Gewinde schlecht einzuschneiden ist. Die ganze Art der Operation ist genau wie bei der Duodenalfistel. Da die größeren Gefäße der Magenwand durch die

Serosa bläulich durchschimmern, sind sie leicht zu vermeiden. Als Ort der Einführung wählt man eine beliebige Stelle des Fundus, die bequem an den Ort hingebracht werden kann, an dem man von außen durchstößt. Die Fixation des Netzes muß besonders sorgfältig sein, da das Netz an der vorderen Magenwand einem stärkeren Zug ausgesetzt ist als am Darm.

Wenn das Tier nur eine Magenfistel bekommt, so legt man sie in die Mittellinie, hat es außerdem eine Duodenalfistel, so ist es bequemer, sie links von der Mitte anzulegen. Außerdem habe ich Hunden, bei denen kein Mageninhalt aufgefangen, sondern nur Futter eingeführt werden sollte, Kanülen nach hinten eingeführt. Den Schnitt macht man entweder in der Mitte und stößt weiter von ihm entfernt durch, oder macht auch den Bauchschnitt seitlich, etwa parallel dem Rippenrand. Auch hier drückt die Kanüle einseitig auf den Wundrand, doch geht die Heilung besser als bei den Darmfisteln.

Die Einheilung der Magenkanülen erfolgt ebenso glatt wie am Darm. Auch habe ich keinen Anhaltspunkt dafür, daß die Motilität des Magens wesentlich gestört ist. Dagegen vergehen nach der Magenoperation mindestens 2 Wochen, bis die Tiere normale Magensaftabsonderung haben, vorher ist sie sehr stark vermindert. Auch weiterhin zeigen Hunde mit Magenfisteln nicht selten vorübergehende Sekretionsverminderung. Ich weiß den Grund nicht anzugeben, eine Vergiftung durch eines der Metalle der Kanüle scheint es aber nicht zu sein, da ich derartige Störungen auch bei silbernen oder versilberten Kanülen gesehen habe. Vergleiche weiter unten.

Kombinationen von Fisteloperationen.

Sehr häufig wird man in die Lage kommen, einem Hunde eine Magenfistel und eine Duodenalfistel anzulegen. Die Operation erfolgt in einer Sitzung, und von einem und demselben Schnitt aus macht man rechts die Darm- und links die Magenfistel. Das Verfahren ist gegeben, wenn es der Versuchszweck erfordert, wenn man z. B. von Zeit zu Zeit Mageninhalt entnehmen will.[1]) Es kann aber auch bei Untersuchungen, bei denen man an sich nur die Duodenalfistel braucht, zweckmäßig sein, außerdem eine Magenfistel anzubringen. Man kann sich so mit Sicherheit überzeugen, ob der Magen leer ist und kann auch mit Sicherheit kontrollieren, ob der Versuch zu Ende ist. Gegen den Schluß hin verläuft die Magenentleerung ganz allmählich, und es ist bisweilen schwierig zu wissen, ob man aufhören soll oder nicht, zumal bei pathologischen oder pharmakologischen Einwirkungen, bei denen die Entleerung verlangsamt ist und Pausen auftreten. *Pawlow* rät schon lange, zu jeder sonstigen Operation eine Magenfistel hinzuzufügen. Ein Nachteil ist die oben erwähnte Empfindlichkeit des Magens, doch habe ich den Vorteil in letzter Zeit überwiegend gefunden.

---

[1]) *O. Cohnheim* und *G. L. Dreyfus,* Zeitschr. für phys. Chemie. Bd. 58. S. 50 (1908). — *O. Cohnheim* und *E. Marchand*, ibid. Bd. **63**. S. 41 (1909). — *L. Klocmann*, ibid. Bd. **80**. S. 17 (1912).

Eine andere Kombination ist die der Duodenalfistel mit einer Darmfistel im Zökum oder im untersten Ileum, so daß man die ganze Länge des Dünndarms zwischen den beiden Kanülen hat und die Zeit des Durchlaufens oder die Resorption bestimmen kann.[1]) Hier ist es zweckmäßig, beide Kanülen auf dieselbe rechte Seite des Tieres zu legen, der Bauchschnitt muß dabei ziemlich lang sein, damit man bei dem Hantieren mit der zweiten Kanüle ungehindert sei.

Hilfsoperationen.

Der Schilderung der Ösophagotomie durch ihren Erfinder *Pawlow*[2]) habe ich nichts Wesentliches hinzuzufügen. Höchstens möchte ich seine Mahnung unterstreichen, einen kleinen Hautschnitt zu machen und den Ösophagus und seine Umgebung schonend zu behandeln. Ich führe eine Schlundsonde vom Maule her ein und gehe auf diese ein. Nach Durchschneidung des Ösophagus, aber vor seiner Fixation tut man gut, unter Leitung des in den Ösophagus eingeführten Fingers die Faszienstränge zu durchschneiden, die den Ösophagus verhindern, die erforderliche Ecke nach außen zu bilden, sonst bestehen nachher am oberen Ende Störungen des Schluckens und am unteren hat man Mühe, die Sonde einzuführen. In der ersten Zeit nach der Operation ist das ständige Herausfließen von Speichel sehr lästig, das die Wunde verschmiert und das ganze Tier und seine Umgebung verschmutzt. Später, wenn die Hunde ihre Wunde nicht mehr lecken, ist es wesentlich besser. In der ersten Zeit nach der Operation ist es erforderlich, den Tieren große Flüssigkeitsmengen beizubringen, am besten auf die Hälfte verdünnte physiologische Kochsalzlösung, der etwas Natriumbikarbonat zugefügt ist. Bei großen Tieren braucht man 1—2 Liter am Tage. Die Tiere dürfen unter keinen Umständen durstig werden, sonst heilt die Wunde nicht und das Befinden verschlechtert sich rapide. Ist es einmal zum Dursten gekommen, so gibt man am besten große Mengen Kochsalzlösung subkutan. Bei der späteren Ernährung wird die Nahrung in die Magenfistel gesteckt, das Wasser mit der Sonde durch die untere Ösophagusfistel eingeführt. Mit einer dicken Sonde und einer kräftigen Spritze bekommt man übrigens eigentlich alles auch in die Ösophagusfistel herein.

Für die anderen *Pawlow*schen Operationen, kleiner Magen, Pankreasfistel usw., habe ich mich immer genau an *Pawlow*s Angaben gehalten.

Bei der Anlegung der Darmfisteln nach *Thiry* oder *Vella*, bei denen ein Stück Darm aus der Kontinuität heraus mit einem oder beiden Enden nach außen geführt wird, mache ich die Vereinigung der Darmenden mit der Naht. Mit dem Murphyknopf habe ich allerdings in früherer Zeit mehrere schlechte Erfahrungen gemacht, da er bei dem dicken Hundedarm zu spät durchschneidet. Ich vereinige die Darmenden mit einer

[1]) *F. Best*, Rostocker Habilitationsschrift.

[2]) *J. P. Pawlow*, Ergebn. d. Phys. I. Bioch. S. 255. 1912.

fortlaufenden Lambertnaht (ohne Nadelhalter nähen!) und decke die Nahtstelle mit Netz. Die Enden des isolierten Stückes müssen stark verengt werden, da man sonst Schleimhautprolapse bekommt. Die Enden heile ich nicht in den Bauchschnitt ein, sondern führe sie mittelst des Troikarts neben der Bauchwunde nach außen durch. Noch besser ist es aber, nach *Pawlows* Vorschlage aus der isolierten Darmschlinge einen Ring zu bilden (*Hermann, F. Voit*) und in die Schlinge eine seitenständige Kanüle einzuheilen.

Um die Galle aus dem Duodenum zu entfernen und so reinen Pankreassaft zu erhalten, haben *Klee* und ich[1]) den Choledochus unterbunden und die Gallenblase mit einer tieferen Dünndarmschlinge vereinigt. Der schräg durch das Mesenterium des obersten Duodenums laufende Ductus choledochus ist von rechts her leicht zu finden, da ein größeres Gefäß oder ein Nerv, mit denen man den Gang verwechseln könnte, hier nicht laufen. Bei der Anastomose der Gallenblase mit dem Darm muß die Darmschlinge nicht von rechts nach links an die Gallenblase herangezogen werden, sondern von hinten nach vorn. Wir haben zunächst 2 Etagen fortlaufender Nähte gelegt, die einen nach oben offenen Halbkreis bildeten, dann die Öffnungen in Gallenblase und Darm gemacht, und die andere Hälfte des Halbkreises durch zwei fortlaufende Nahtreihen geschlossen. Die Nähte sollen jedenfalls im Darm nicht ins Lumen gehen. Die Öffnungen sollen weit sein. Bei der Eröffnung der Gallenblase entleert sich ein Schwall von Galle. Die Gallenblase bei Beginn der Operation mit dem Finger auszudrücken, ist uns nicht gelungen. Zum Schluß zieht man Netz um die Anastomose herum.

Best und ich[2]) haben zur Aufhebung des Pylorusreflexes den Sphincter pylori teilweise entfernt. Der Schnitt zur Eröffnung des Darmes soll hierbei in der Längsrichtung des Darmes erfolgen, da Hunde Querschnitte in der Pylorusgegend, wie *Pawlow* beobachtet hat und ich bestätigen kann, merkwürdig schlecht vertragen.

Nachoperationen.

Bei seitlicher Durchstoßung ereignet es sich selten, daß ein Hund seine Kanüle herausreißt. Immerhin kommt es vor. Ferner kommt es vor, daß sich der innere Schlauch der Darmkanüle verstopft oder abreißt und es kommt endlich vor, daß die Kapseln abgehen und die Hunde das freie Kanülenende so zerbeißen, daß die Kanüle unbrauchbar wird. Ereignet sich ein solcher Zufall in der ersten Zeit post operationem, wenn noch starke Verwachsungen vorhanden sind und die Narbe noch wenig fest ist, so ist das einzig richtige, den Hund zu opfern und einen neuen zu operieren. Ist die Narbe schon fest und hat man Grund, das Tier zu erhalten, so kann man eine neue Kanüle einführen oder den Schlauch er-

[1]) *O. Cohnheim* und *P. Klee*, Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. 78. S. 464 (1912).
[2]) *F. Best* und *O. Cohnheim*, ibid. Bd. 69. S. 113 (1910).

setzen. Den Bauchschnitt macht man nicht in der alten Narbe. Den Magen eröffnet man an beliebiger Stelle, entfernt von der Kanüle, mit einem großen Schnitt, läßt die Schnittränder durch einen Assistenten auseinander und in die Höhe halten, geht mit zwei Fingern in den Magen ein und führt die neue Kanüle durch die alte Öffnung nach außen während man mit dem Zeigefinger der anderen Hand von außen entgegenkommt. Die Magenwunde schließt man durch eine fortlaufende Lambertnaht und deckt mit Netz. Ebenso eröffnet man den Darm durch einen Längsschnitt gegenüber dem Mesenterialansatz und schließt ihn nachher durch fortlaufende Naht. Ist beim Darm die Stelle, an der man einzugreifen hat, von der Kanüle entfernt, so ist die Operation leicht, man muß natürlich nur durch gute Abdeckung die Bauchhöhle vor Darminhalt schützen. Ich habe so den an der Spitze verstopften oder den zu kurz genommenen Schlauch durch einen zweiten Schlauch verlängert. Schwierig ist die Operation, wenn man an der Stelle operieren muß, wo der Darm an der Bauchwand fixiert ist. Hier ist es vor allem nötig, von vornherein durch einen ausgiebigen Hakenschnitt die Stelle zugänglich und beweglich zu machen.

Operationen an anderen Tieren.

Magenfisteln habe ich außer an Hunden auch an Ziegen gemacht. Die Äthernarkose war einfach und die Operation leicht. Nur in einem Falle war der Pansen so ausgedehnt, daß er die Bauchhöhle prall ausfüllte, und es unmöglich war, an andere Organe heranzukommen. Der Pansen wurde durch einen Schnitt eröffnet, es erfolgte eine mächtige Gasentwicklung, die den Pansen entleerte, und der Schnitt wurde durch Naht geschlossen. Darmfisteln dürften bei dem typischen Pflanzenfresser recht schwierig anzulegen sein.

Katzen und Kaninchen nähe ich bei der Hautnaht nicht wie die Hunde, sondern fortlaufend und mit Durchstoßung der Haut, auch nur in 2 Etagen.

Beim Haifisch (Scyllium catulus) habe ich einmal einen „kleinen Magen“ angelegt.

II. Technik der Versuche an Duodenalfisteln.

Bei den Versuchen stehen die Hunde in bekannter Weise auf einem Tisch, über dem durch ein Gestell ein wagrechtes Brett befestigt ist, am besten in verstellbarer Höhe. An diesem Brett werden die Hunde durch die bekannten Lederhosen so befestigt, daß sie bequem und behaglich stehen können. Bei länger dauernden Versuchen kann man noch eine Einrichtung hinzufügen, daß die Tiere den Kopf auflegen können. Es gelingt fast immer die Hunde so abzurichten, daß sie während eines mehrstündigen Versuches ganz ruhig stehen, sehr häufig schlafen sie, was das Wünschenswerteste ist. Allzulange sollen die Versuche nicht ausgedehnt werden, nach

3—4 Stunden werden manche Hunde sehr müde und unruhig und das wirkt hemmend auf die Verdauungsbewegungen. Ferner muß es unbedingt vermieden werden, die Tiere mehrere Tage hintereinander in Versuch zu nehmen. Bei Versuchen, bei denen den Tieren Verdauungssekrete entzogen werden, ist das leicht verständlich. Aber auch bei anderen Versuchen, bei denen sie nichts oder so gut wie nichts verlieren, hat sich immer gezeigt, daß die Magensaftsekretion, häufig auch die Motilität verändert waren, wenn die Tiere zu oft in Versuch kamen. Unter allen Umständen muß in der versuchsfreien Zeit dafür gesorgt werden, daß die Tiere, abgesehen von ihrem Futter, genügend Salz bekommen, um die Salzsäure des Magensaftes und das Alkali des Pankreassaftes ersetzen zu können. Ferner ist es unbedingt nötig, daß die Tiere immer reichlich Wasser haben. Bei einem durstigen Hund fallen die Versuche ganz anders aus als bei einem nichtdurstigen. Wenn der Hund bei Beginn des Versuches freiwillig Wasser trinkt, was Hunde nur bei Durst tun, ist der Versuch zu verwerfen.

In der versuchsfreien Zeit ist die Kanüle mit Watte ausgestopft, am besten mit unentfetteter Watte. Die Watte muß die Kanüle bis zum inneren Rande ausfüllen, da sich sonst Darminhalt in der Kanüle ansammeln und zersetzen würde. Bei Beginn nimmt man die Kapsel weg, nimmt die Watte heraus, ersetzt das Verschlußschräubchen des kleinen Röhrchens durch die mit einem Schlauch versehene Einspritzvorrichtung und überzeuge sich zunächst davon, daß der Magen leer ist, außer natürlich, wenn anderes beabsichtigt ist. Etwas gallig gefärbter Duodenalinhalt läuft nach Öffnung der Kanüle fast immer heraus, aber es dürfen 10 Minuten lang keine Magenschüsse kommen.

Die Duodenalfistel dient zunächst dazu, das, was aus dem Magen in das Duodenum übertritt, aufzufangen. Anfangs haben wir unterhalb der Kanüle einen Ballon im Darm aufgeblasen, um auf diese Weise sicher zu sein, daß wirklich aller Inhalt nach außen fließt. In vielen Hunderten von Versuchen haben wir uns aber dann überzeugt, daß bei der richtigen Weite und Lagerung der Kanüle ein solcher Abschluß überflüssig ist. Festes und Flüssiges kommt quantitativ zur Kanüle heraus. Wenn man mit einem Spiegel in die Kanüle hineinleuchtet[1]), kann man sich leicht davon überzeugen, wie bei ruhendem Darm die der Kanüle gegenüberliegende Darmwand auf der Kanüle aufliegt. Bei jeder peristaltischen Welle hebt sie sich von der Kanüle ab und man kann gut beobachten, wie der Inhalt herausfällt. Das, was herausläuft, fängt man in einer Schale auf, die man etwas hoch stellt. Denn das Feste fällt aus der Kanüle gerade nach unten, Flüssiges aber wird bisweilen weit herausgespritzt.

Weiterhin dient die Duodenalfistel dazu, etwas in den Darm einzuspritzen und die Einspritzung des sich entleerenden Mageninhalts ist bei den meisten Versuchen unbedingt notwendig. Auf den Pylorus wirken

---

[1]) *L. Tobler*, Zeitschr. f. phys. Chemie. 45. S. 185 (1905).

zwei verschiedene Reflexe ein 1. mechanische, die vom Mageninnern herwirken, und 2. chemische, die vom Darm her wirken. Wo die mechanischen Reflexe eine erhebliche Rolle spielen, sind die chemischen Reflexe weniger wichtig, und das ist z. B. der Fall, wenn man Brot oder Fleisch in groben Stücken verfüttert, die der Pylorus zurückweist, auch wenn er nicht durch einen Chemoreflex vom Darm aus geschlossen wird. Bei Flüssigkeiten, Suppen, bei feingehacktem Fleisch, bei Milch, Ei, Brei oder der Probemahlzeit, spielen die mechanischen Einwirkungen dagegen gar keine Rolle, denn Flüssiges und Dünnbreiiges vermag den Pylorus ohne weiteres zu passieren. Wenn die Chemoreflexe vom Darm her ausgeschaltet sind, so läuft der Magen bei diesen Stoffen in kürzester Zeit leer. Bei den Stoffen der ersteren Art erhält man ohne Einspritzung für die Zeit der Magenverdauung Werte, die meist nicht allzusehr hinter der Norm zurückbleiben, bei den Stoffen der zweiten Art dagegen völlig sinnlose Werte. Was die Einwirkung der Einspritzungen auf die Sekretion des Magens anlangt, so ist diese einigermaßen kompliziert. Die Magensekretion wird ja erstens durch den Wohlgeschmack hervorgerufen, zweitens durch chemische Reize, die vom Mageninneren herkommen (Hormon des Antrum pylori), drittens hemmend durch Einfluß vom Darm her. Der Appetitsaft bleibt natürlich der gleiche, ob eingespritzt wird oder nicht. Die Hormonsekretion wird bei unterbleibender Einspritzung herabgesetzt, weil die Stoffe kürzer im Magen verweilen. Andrerseits fällt die Hemmung vom Darm her bei Unterbleiben der Einspritzung weg.[1]) Infolgedessen macht sich das Unterbleiben der Einspritzung bei den Stoffen relativ wenig bemerkbar, bei denen hauptsächlich der Appetitsaft eine Rolle spielt und die Hormonsekretion zurücktritt (Hafermehl, Weizenmehl). Sie spielt eine größere Rolle bei Fleisch, Kartoffeln und Brot, die eine stärkere Hormonsekretion zeigen. Am auffallendsten ist die Störung durch Nichteinspritzung bei der Probemahlzeit, die starke Hormonsekretion zeigt, und bei Unterbleiben der Einspritzung in kürzester Zeit den Magen verläßt. Die Unterschiede ergeben sich aus folgender Tabelle:

	Magensaft		Zeit	
	ohne	mit	ohne	mit
Probefrühstück . . .	—	—	2 St.	$2^1/_4$ St.
Hafergrütze[2]) . . .	82 *cm*³	124 *cm*³	26′	244′
Weizenmehl[2]) . . .	166 „	192 „	20′	240′
Kartoffeln[3])	373 „	422 „	125′	238′
Probemahlzeit[3]) . .	400 „	800 „	41′	215′

Wenn es sich um noch ununtersuchte Stoffe handelt, muß jedenfalls unter allen Umständen mit Einspritzung gearbeitet werden, sonst sind die Versuche wertlos. Ferner muß bei allen pathologischen[3]) und pharmakolo-

[1]) *O. Cohnheim* und *F. Marchand*, Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. **63**. S. 41 (1909).

[2]) *O. Cohnheim* und *P. Klee*, ibid. Bd. **78**. S. 464 (1312).

[3]) *O. Cohnheim* und *G. L. Dreyfus*, ibid. Bd. **58**. S. 50 (1908).

gischen[1]) Versuchen die Einspritzung zur Anwendung kommen, da die meisten Agenzien nicht direkt auf den Magen wirken, sondern reflektorisch vom Dünndarm aus.[2])

Bei Darmfisteln unterhalb des Duodenums muß ebenfalls immer eingespritzt werden, da es im Dünndarm keine mechanischen Hemmungen wie am Pylorus gibt. Der Wegfall der chemischen Hemmung würde die Versuche unverwertbar machen. Am untersten Ende des Dünndarms scheint die Einspritzung wenig Bedeutung zu haben, da hier die chemischen Reflexe keine große Rolle mehr spielen. Doch sind die Untersuchungen über Reflexe in der Ileocoecalgegend noch nicht abgeschlossen.

Zur Einspritzung haben wir uns früher Spritzen bedient, verbinden aber neuerdings immer die Einspritzvorrichtung mit einer Bürette und lassen langsam einlaufen. Die Bürette sei kurz und weit, da die Ablesung nicht genauer zu sein braucht als 1 *cm*³. Nimmt man die Schläuche, die im Darm liegen, so lang, wie oben angegeben ist, so kommt es unter normalen Bedingungen kaum je zu einem Rücklauf. Unter der Einwirkung pharmakologischer Reagenzien dagegen sehr leicht (Morphin[3]), Antipyrin[4]). Man muß dann versuchen, recht langsam und unter geringem Druck einlaufen zu lassen, und setzt, um einen etwaigen Rücklauf sofort erkennen zu können, der einlaufenden Flüssigkeit einen Tropfen Eosinlösung zu.

Man kann mit der Duodenalfistel in mehreren Arten experimentieren:

1. Am einfachsten sind die Versuche, wenn man nur die Zeit der Magenverdauung und die Menge aller Sekrete kennen lernen will, dann spritzt man das, was aus der Fistel herausläuft, immer sofort in sie herein und mißt es nur.[5]) Flüssigkeiten werden aus der Schale in die Bürette gegossen, die Menge wird notiert und man läßt einlaufen. Festes wird erst durch ein Drahtnetz gegossen oder durchgerieben und dann erst aufgegossen, der feste Rückstand am Schlusse oder von Zeit zu Zeit gewogen. Das Protokoll gibt dann ohneweiters das genaue Tempo der Entleerung und die Gesamtmenge dessen, was das Duodenum passiert, bei bekannter Futtermenge, also die genaue Menge der Sekrete abzüglich der etwaigen Resorption im Magen. Das Aufgießen soll möglichst rasch erfolgen. Am richtigsten würde es sein, wenn jeder einzelne Magenschuß sofort wieder eingespritzt würde. Das geht nun nicht wohl an, aber jedenfalls soll man nicht warten, bis sich etwa eine größere Menge angesammelt hat, sondern auch kleine Mengen sofort einlaufen lassen. Besonders wichtig ist das bei dem ersten Beginn eines Versuches. Wird z. B. Fleisch in Stücken verfüttert, so beginnt sofort eine reichliche Magensaftsekretion, und es setzt auch sofort die Ausspritztätigkeit des Magens ein. Die Folge davon ist,

---

[1]) *L. Klocmann*, ibid. Bd. **80**. S. 17 (1912).

[2]) *F. Best* und *Cohnheim*, Münchener med. Wochenschr. 1911. Nr. 51.

[3]) *O. Cohnheim* und *G. Modrakowski*, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **71**. S. 273 (1911).

[4]) *F. Best* und *O. Cohnheim*, Münchener med. Wochenschr. Nr. 51 (1911). — *L. Klocmann*, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **80**. S. 17 (1912).

[5]) *L. Klocmann*, ibid. Bd. **80**. S. 17 (1912).

daß der Magensaft, ehe er in die Fleischstücke eindringt, aus dem Pylorus herausbefördert wird. Unter normalen Verhältnissen macht der erste Schuß stark sauren Sekretes Pylorusschluß; läßt man aber etwas Zeit vergehen, ehe man Magensaft einlaufen läßt, so kann es passieren, daß sich ein erheblicher Teil des Appetitsaftes entleert, während das Fleisch bei geschlossenem Pylorus trocken im Magen liegt. Man bekäme dann natürlich sinnlose Werte. Aber auch gegen Ende einer Verdauungsperiode darf man mit den Einspritzungen nicht zögern. Die Motilität des Magens hängt ja ebenfalls von dem Wohlgeschmack ab.[1] Auf den Freßreiz hin beginnt das Antrum pylori seine rhythmische Tätigkeit und setzt diese, wenn es einmal angefangen hat, trotz der Unterbrechung durch die Hemmungen vom Darm her lange Zeit fort. Wenn man aber eine sehr lange Hemmung vom Darm her setzt, kann es, zumal wenn der Magen wenig gefüllt ist, geschehen, daß die Magenperistaltik einfach aufhört und mangels eines Reizes nicht von neuem anfängt. Man kann sie dann häufig von neuem in Gang bringen, indem man den Hund an etwas lecken läßt, was ihm schmeckt, z. B. an der Schale, in der sich der Mageninhalt ansammelt. Besser ist es aber, man setzt von vornherein keine langen Hemmungen. Die Versuche sind um so genauer, je prompter das Einlaufenlassen auf die Entleerung folgt. Aufpassen muß man auch gegen Ende eines Versuches, um nicht etwa zu früh aufzuhören. Gegen Ende einer Verdauungsperiode wird die Magenentleerung ganz allmählich langsamer, sie verläuft schließlich. Es treten kürzere und längere Pausen auf, und wenn man sich nicht etwa an einer gleichzeitigen Magenfistel von der Magenleere überzeugen kann, so können einem zumal bei pathologischen Versuchen, bei denen diese Pausen verlängert sind, arge Irrtümer passieren.

Mit dieser Methode bestimmt man also die Zeit und die Gesamtmenge aller Sekrete: Speichel, Magensaft, Pankreassaft und Galle. Man erhält alle Reflexe. Für pharmakologische und pathologische Versuche ist diese Methode am meisten empfehlenswert.

An einem und demselben Hund stimmen Versuche mit der gleichen Nahrung in Zeit, Menge und Tempo auf 5% überein. Sind die Unterschiede größer als 5 bis höchstens 10%, so liegen Versuchsfehler oder pathologische Zustände vor. Bei verschiedenen Hunden können die Unterschiede aber bedeutend sein.

2. Anders muß man verfahren, wenn man das, was sich aus dem Magen entleert, untersuchen will, also den Grad der Magenverdauung, die Resorption im Magen, das Verhalten der Salzsäure usw. bestimmen will.[2] Dann muß man Doppelversuche machen, d. h. man verfüttert die betreffende Nahrung zunächst an einen Hund und fängt das, was aus der Fistel kommt, ohne Einspritzung auf. In einem zweiten Versuche verfüttert man

[1] *F. Best* und *O. Cohnheim*, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **69**. S. 113 (1910).

[2] *L. Tobler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **45**. S. 85 (1905). — *O. Cohnheim*, Münchener med. Wochenschr. S. 2581 (1907). — *O. Cohnheim* und *G. L. Dreyfus*, Zeitschrift f. physiol. Chem. Bd. **58**. S. 50 (1908).

dasselbe und spritzt das bei dem ersten Versuch Aufgefangene abwärts in die Kanüle ein. Um den ersten Versuch schon etwas natürlicher zu machen, kann man bei ihm durch Einspritzung verdünnter Salzsäure die Magenverdauung verlängern, doch ist es meistens nicht erforderlich. Will man chemische Untersuchungen mit dem Mageninhalt vornehmen, so kann man ihn in einem Gefäß auffangen, das in einer Kältemischung steht, so daß jede Fermentwirkung ausgeschlossen ist, sobald der Mageninhalt die Kanüle verläßt.

3. Die Duodenalfistel kann auch dazu benützt werden, um den Magensaft allein aufzufangen.[1]) Daß man mit ganz hohen Fisteln in der Regel nicht zum Ziele gelangt, ist oben auseinandergesetzt worden. Man kommt aber auch mit einer gewöhnlichen Duodenalfistel aus und muß nur die Magenentleerung und die Sekretion der Duodenalsekrete zeitlich trennen. Man macht bei der Einspritzung längere Pausen, läßt erst eine gewisse Menge auslaufen und führt dann diese auf einmal ein. Dabei wird der Pylorus geschlossen und es entleert sich nun Galle und Pankreassaft, die man am besten gleich wieder einlaufen läßt. Nach einiger Zeit öffnet sich der Pylorus wieder und es entleert sich Mageninhalt. Die Methode ist nicht völlig genau, da die Sekretion des Pankreassaftes meist etwas länger dauert als der Schluß des Pylorus. Indessen schätzen wir den Fehler auf weniger als 5%. Die Zeit der Magenentleerung wird bei dieser Methode aber falsch angegeben (siehe oben).

4. Zur Gewinnung von Pankreassaft und Galle benutzt man die Duodenalfistel bei leerem Magen.[2]) Hierbei ist indessen zu berücksichtigen, daß der Dünndarm sich schlecht bewegt und wenig aufnimmt, wenn der Magen nicht vorher in Tätigkeit ist.[3]) Bei leerem Magen bekommt man gewöhnlich starken Rücklauf und man muß daher den Hunden etwas zu saufen geben und, so wie dies aus dem Magen herausgelaufen ist, mit dem eigentlichen Versuch beginnen. Man kann entweder bestimmte Stoffe einspritzen, d. h. die Menge von Pankreassaft und Galle bestimmen, die auf eine bestimmte Menge Salzsäure, Öl oder Seife abgesondert wird, oder man kann die Sekretmengen bei einer bestimmten Nahrung bestimmen. In diesem Falle verfüttert man die Nahrung und gewinnt nach Methode 3 den Mageninhalt, der zu ihr gehört. Meist ist ein Doppelversuch nötig. Den Mageninhalt läßt man dann einem nüchternen Tiere einlaufen. Hierbei verliert der Hund Alkali und bekommt Säure zugeführt, vermutlich ist das nicht gleichgültig für die Sekretion des Pankreassaftes, und es empfiehlt sich daher, zwischen den Mageninhaltinjektionen den auslaufenden Pankreassaft einlaufen zu lassen.

Will man Pankreassaft allein haben, so muß man die Galle mittelst der oben beschriebenen Anastomose aus dem Duodenum wegleiten. Will man nicht die Menge des Pankreassaftes bestimmen, sondern beabsichtigt

---

[1]) *O. Cohnheim* und *P. Klee*, ibid. Bd. 78. S. 464 (1912).

[2]) *O. Cohnheim* und *P. Klee*, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 78. S. 464 (1912).

[3]) *F. Best*, Rostocker Habilitationsschrift (1912).

man nur reinen Pankreassaft für irgend welche Untersuchungen zu gewinnen, so genügt es gewöhnlich, mehrmals hintereinander Salzsäure ins Duodenum einzuspritzen. Auf die erste Injektion entleeren sich Pankreassaft und Galle, auf die folgenden meist nur Pankreassaft. Man kann auch erst Wittepepton einspritzen, das eine starke Gallensekretion hervorruft. Hinterher entleert sich auf Salzsäure meist nur noch Pankreassaft und keine Galle mehr.

Um Galle allein zu gewinnen, müßte man das Pankreas exstirpieren [1]), doch habe ich die Duodenalfistel noch nicht mit der Exstirpation kombiniert. Versuche, den oberen Pankreasgang zu unterbinden und aus einer hohen Fistel die Galle allein aufzufangen, haben bisher nicht zum Ziele geführt.

Die Anwendung einer dieser Methoden hängt natürlich von dem Versuchszweck ab. Will man die Methodik kennen lernen oder demonstrieren, so empfehlen sich etwa folgende Versuche:

Man gibt Fleisch in groben Stücken. Das, was sich aus der Fistel entleert, ist fast ganz verflüssigt und stark sauer, enthält aber keine freie Salzsäure. Schön zu demonstrieren ist, daß während dieser Entleerung von ganz verflüssigtem Mageninhalt im Fundusteil des Magens gleichzeitig das Fleisch noch kaum angedaut ist.

Man gibt ein Probefrühstück, bestehend aus einem Brötchen, das in 400 cm^3 Wasser aufgeweicht ist. Es entleert sich erst reines Wasser, das nur schwach sauer ist, nach einer halben Stunde folgt dünner Brotbrei, der Kongopapier bläut.

Will man das rasche Hindurchlaufen von Flüssigkeiten durch den vollen Magen zeigen [2]), so gebe man den Hunden Wasser, dem wenige Kubikzentimeter Milch beigefügt sind. Milch und Butter sind bei Hunden wirksamere Geschmackskorrigenzien als Fleisch und Bouillon, doch darf nicht vergessen werden, daß die Hinzufügung von kleinen Mengen schmeckender oder chemisch wirksamer Stoffe die Verdauung sehr stark beeinflussen kann. [3]) An tiefen Dünndarmfisteln ist am besten das schnelle Hindurchlaufen von physiologischer Kochsalzlösung durch den ganzen Darmkanal zu demonstrieren. [4])

---

[1]) *O. Cohnheim,* Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **47**. S. 283 (1906).

[2]) Eine zusammenfassende Darstellung über das Verhalten von Flüssigkeiten ist in Vorbereitung.

[3]) *F. Best,* Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **104**. S. 94 (1911).

[4]) *F. Best,* Rostocker Habilitationsschrift (1912).

Über den Nachweis und die Bestimmung des Adrenalins im Blute.

Von **R. Gottlieb** und **J. M. O'Connor** (Heidelberg).

Die Adrenalinbestimmung im Blute hat in zahlreichen Untersuchungen als wichtiges Hilfsmittel zum Nachweis und zum Studium der inneren Sekretion gedient. Auch zur Ermittlung des Adrenalingehalts der Nebennieren selbst werden die gleichen Methoden der Bestimmung verwendet und auf Grund solcher Bestimmungen wird auf den Tätigkeitsgrad der Drüsen unter wechselnden Bedingungen geschlossen.

Nicht weniger Interesse als für den Physiologen hat die Bestimmung der so ungemein aktiven Substanz im Blute für den Pathologen. Gerade mit Rücksicht auf die bisherigen Versuche, pathologische Zustände als Folgen einer gesteigerten Adrenalinsekretion zu deuten, bedürfen jedoch die Fehlerquellen der angewandten Methoden einer eingehenden Kritik.

Von einer brauchbaren Bestimmung des Adrenalins im Blute müssen wir verlangen, daß sie 1. auf einer spezifischen chemischen oder biologischen, für das Adrenalin charakteristischen Reaktion beruht, und daß sie 2. auch eine genügende Empfindlichkeit für die sehr geringen Adrenalinmengen besitzt, welche im Blute in Betracht kommen. Diesen Anforderungen entspricht streng genommen keine der bisherigen Methoden. Die einen — dies gilt z. B. für alle chemischen — sind nicht empfindlich genug, um bei der ungeheuren Verdünnung des Adrenalins im Blute ohne vorherige Konzentration zum Nachweis zu genügen; Konzentrierung der Lösungen bringt aber die Gefahr von Zersetzung mit sich. Die anderen Methoden — und dies gilt für die biologischen — sind zwar sehr empfindlich, bei den meisten genügt aber die Spezifität strengeren Anforderungen nicht.

Die bisher vorgeschlagenen chemischen Methoden sind für die Bestimmung des Adrenalins in Nebennierenextrakten und -Präparaten verwendbar und mögen auch für den Nachweis eines reichlicheren oder spärlicheren Adrenalingehalts in den Drüsen ausreichen. Für Bestimmungen im Blute sind sie nicht empfindlich genug.

Die älteste für den Nachweis des Adrenalins in den Geweben angewandte Methode ist die Chromierung. Sie hat zur Erkennung der Lokalisation der blutdruck-

steigernden Substanz im Marke und in den anderen chromaffinen Geweben gedient. *Elliott* und *Tuckett*[1]) haben die Chromierung des Gewebes in exakter Weise als eine Reaktion des Adrenalins erwiesen, indem sie die Farbenveränderung verdünnter Lösungen von Kaliumbichromat durch Adrenalin zeigten. *Kahn*[2]) und *Elliott*[3]) u. a. haben die Chromierung auch zur quantitativen Abschätzung des Gehalts der Nebennieren an Adrenalin nach verschiedenen Eingriffen benutzt.

Batelli[4]) verwendet die Grünfärbung durch Eisenchlorid zur quantitativen Bestimmung von Adrenalinlösungen, indem er die größte Verdünnung der unbekannten Lösung aufsucht, welche der schwachen Farbenreaktion einer Verdünnung von 0·01 Adrenalin in 375 *cm*³ entspricht. Daß die geringe Empfindlichkeit dieser Reaktion nicht ausreicht, in unkonzentriertem Blut Adrenalin nachzuweisen, liegt auf der Hand. *Vulpian*[5]) hat freilich die Eisenchloridreaktion zum Nachweis des Adrenalins im Nebennierenvenenblut zu verwenden gesucht, seine Versuchsanordnung kann aber heute nicht mehr als einwandfrei gelten (vgl. *Marchand*[6]), *Gierke*[7]).

Nach *Fraenkel* und *Allers*[8]) entsteht durch Jodsäure oder Kaliumbijodat und verdünnte Phosphorsäure rosarote Färbung auch noch bei einer Verdünnung von 1:300.000 Adrenalin.

Weiterhin wurde die Jodreaktion des Adrenalins in verschiedenen Modifikationen zur Ausarbeitung von Methoden herangezogen. *Abelous*, *Soulié* und *Toujan*[9]) vergleichen die Färbung von Nebennierenextrakten mit der Rosafärbung von 1 *mg* Adrenalin nach Behandlung mit Jodlösung und Stärke nach Beseitigung des Überschusses der angewandten Jodlösung durch Thiosulfat.

Mittelst der Sublimatmethode hat *Comessatti*[10]) systematische Untersuchungen über den Gehalt der Nebennieren menschlicher Leichen angestellt. Der Schwellenwert der Empfindlichkeit der Reaktion liegt bei 1:2 Millionen. *Cevidalli*[11]) benutzt Ferricyankali und Ammoniak zum Nachweis des Adrenalins; *Zanfrognini*[12]) hat die Entfärbung des braunen Mangansuperoxyds durch Adrenalin (Übergang in farblose niedere Oxyde) zu einer kolorimetrischen Bestimmung ausgearbeitet, die noch 1:1 Million Adrenalin anzeigt.

Zum Nachweis und zur Bestimmung des Adrenalins im Blute konnten diese chemischen Nachweismethoden nicht in erfolgreicher Weise verwendet werden. Für die Blutuntersuchung ist man vielmehr auf biologische Reaktionen angewiesen, die zwar für das Adrenalin weit empfindlicher, aber meistens auch vieldeutig sind.

Das Adrenalin ist bekanntlich ein spezifisches Erregungsmittel der Sympathicus-Endapparate, d. h. der sog. rezeptiven Substanz, die sich zwischen die sympathischen Nervenfasern und ihre Erfolgsorgane einschiebt. Die Wirkung des Adrenalins erstreckt sich somit auf die verschiedensten sympathisch innervierten Organe, und die große Zahl der

[1]) *Elliott* und *Tuckett*, Journal of Physiology. Vol. **34**. p. 333 (1906).
[2]) *Kahn*, *Pflüger*s Archiv. Bd. **140**. S. 209 (1911).
[3]) *Elliott*, Proc. Phys. Soc. in Journal of Physiology. Vol. **43**. p. 32 (1912).
[4]) *Batelli*, Comptes rendus Soc. Biol. T. **54**. p. 571 (1902).
[5]) *Vulpian*, Comptes rendus de l'Académie des Sciences. T. **43**. p. 663 (1856).
[6]) *Marchand*, Festschrift für *Virchow* 1891.
[7]) *Gierke*, Ergebnisse der Pathologie. Bd. **10**. S. 213 (1906).
[8]) *Fraenkel* und *Allers*, Biochem. Zeitschr. Bd. **18**. S. 39 (1909).
[9]) *Abelous*, *Soulié* und *Toujan*, Comptes rendus Soc. Biol. T. **57**[I]. p. 301 (1905).
[10]) *Comessatti*, Archiv für experimentelle Path. u. Pharm. Bd. **62**. S. 190 (1910).
[11]) *Cevidalli*, Lo sperimentale. Vol. **62**. p. 787 (1908).
[12]) *Zanfrognini*, Deutsche med. Wochenschr. S. 1725 (1909).

Adrenalinangriffspunkte läßt es begreiflich erscheinen, daß eine ganze Reihe von Wirkungen als Maß für die Stärke adrenalinhaltiger Lösungen verwendet werden kann.

Zunächst war schon in dem hervorstechendsten Symptom der Adrenalinwirkung am höheren Tier, in der Blutdrucksteigerung, eine biologische Reaktion gegeben, an der sich die Wirkungsstärke von Adrenalinlösungen unbekannten Gehaltes bequem mit der bekannter Lösungen vergleichen ließ.

Vom ersten Beginn der neueren Physiologie der Nebennieren an ist der Blutdruckversuch in dieser Art zum Nachweis der aktiven Substanz im Nebennierensekret verwendet worden.[1])

Der erste, der quantitative Bestimmungen auszuführen suchte, war *Batelli*[2]): er benützte Karotisblut, konnte aber durch unverdünntes Blut keine Drucksteigerung erhalten — vermutlich weil das Karotisblut in der Tat zu wenig Adrenalin enthält. Deshalb war *Batelli* gezwungen, das Serum zu konzentrieren. Seither ist die Blutdruckwirkung vielfach zur Bestimmung des Adrenalingehaltes von Nebennierenauszügen, aber auch zur Bestimmung des Gehaltes von Nebennierenvenenblut an Adrenalin verwendet worden.

Da die Angriffspunkte des Adrenalins in der Peripherie liegen, also auch an Organen erhalten bleiben, die vom Zentralnervensystem abgetrennt oder aus dem Tierkörper völlig herausgenommen sind, ja da sie unter diesen Bedingungen sogar der Giftreaktion zugänglicher werden können, so war die Möglichkeit gegeben, auch überlebende Organe zum Nachweis und zur Bestimmung des Adrenalins zu verwenden. An solchen Testobjekten, die unter geeigneten Bedingungen gehalten viele Stunden hindurch empfindlich bleiben, sind alle anderen biologischen Bestimmungsmethoden ausgearbeitet worden. Die erste derselben war die *Meltzer*[3])-*Ehrmann*sche[4]) Pupillenreaktion am enukleierten Froschauge. Mit ihrer Hilfe wurde der erste Beweis für den im Vergleich zu anderen Blutsorten höheren Adrenalingehalt des Nebennierenvenenbluts erbracht (*Ehrmann*). Das Karotisblut fand *Ehrmann* am enukleierten Auge unwirksam, vielleicht weil die Empfindlichkeit des Präparats nicht ausreicht, um die vermutlich nur ganz minimalen Adrenalinspuren im Karotisblut anzuzeigen. Viel empfindlicher ist das von *O. B. Meyer*[5]) angegebene Testobjekt, Arterienstreifen oder -Ringe von frisch getöteten Tieren. Von ähnlicher Empfindlichkeit ist der von *Fraenkel*[6]) vorgeschlagene Nachweis des Adrenalins am überlebenden Kaninchenuterus. Beide Methoden sind aber schwierig in der Ausführung und sind deshalb wenig benutzt worden. Dagegen verbindet die von *Trendelenburg*[7]) ausgearbeitete Methode der Durchleitung überlebender Froschgefäße den Vorteil bequemer Aus-

[1]) *Cybulski* und *Szymonowicz*, *Pflügers* Archiv. Bd. **64**. S. 97 (1896).
[2]) *Batelli*, Compt. rendus Soc. Biol. T. **54**. p. 1179 (1902).
[3]) *Meltzer* and *Clara Auer*, American Journal of Physiol. Vol. **11**. p. 449 (1904).
[4]) *Ehrmann*, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **53**. S. 97 (1905).
[5]) *O. B. Meyer*, Zeitschr. f. Biol. Bd. **48**. S. 353 (1906).
[6]) *Fraenkel*, Archiv für exp. Path. u. Pharm. Bd. **60**. S. 395 (1909).
[7]) *Trendelenburg*, Archiv für exp. Path. u. Pharm. Bd. **63**. S. 161 (1911).

führbarkeit mit großer Empfindlichkeit. Neuerdings haben endlich *Cannon* und *de la Paz*[1]) den Dünndarm von Kaninchen und Katzen als empfindlichstes Testobjekt empfohlen; vor den meisten anderen Methoden hat diese, wie wir sehen werden, den Vorzug der für Adrenalin am meisten spezifischen Reaktion (Hemmung der Bewegungen des überlebenden Organs), ist aber zu quantitativen Bestimmungen wenig geeignet.

Schon die große Zahl der in Vorschlag gebrachten biologischen Methoden beweist, daß keine derselben für sich allein allen Anforderungen entspricht. Wir werden im Folgenden die Vorzüge und die Mängel der verschiedenen Methoden von vier Gesichtspunkten aus zu betrachten haben: 1. kommt die größere oder geringere technische Schwierigkeit der Ausführung in Betracht und 2. die mehr oder weniger ausgeprägte Spezifität der Reaktion, von der die Zuverlässigkeit als Nachweismethode abhängt; 3. ist die Eignung der Testobjekte, noch auf kleinste Adrenalinmengen einen Ausschlag zu geben, zu diskutieren, denn von ihr hängt die Empfindlichkeit des Nachweises ab, und endlich 4. die Eignung der verschiedenen Testobjekte, auch Konzentrationsunterschiede scharf genug festzustellen; nur wenn zwischen der Größe des Ausschlags und der angewandten Konzentration ein genügender Parallelismus besteht, sind die Methoden auch zu genaueren quantitativen Bestimmungen geeignet.

Um zu erläutern, daß gewisse Testobjekte sehr empfindlich sein können, aber doch nicht imstande sind, die Konzentrationsunterschiede scharf anzuzeigen, sei z. B. auf den Kaninchenuterus verwiesen. Er ist sehr empfindlich; noch 1 zu 20 Millionen Adrenalin gibt an guten Präparaten einen deutlichen Ausschlag; aber zur quantitativen Bestimmung ist die Methode weniger geeignet, weil der Ausschlag auch nach 1 zu 10 Millionen an dem gleichen Präparate kaum größer ausfällt. Somit kann man nur den Schwellenwert der Wirksamkeit bei sukzessiver Verdünnung feststellen, nicht aber aus der Größe des Ausschlags auf die Konzentration schließen.

Adrenalinbestimmung mit Hilfe des Blutdruckversuchs.

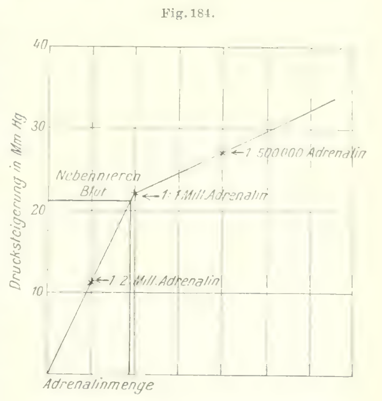
Die älteste Methode des Nachweises und der Bestimmung von Adrenalin wurde auf das Verhalten des Blutdrucks nach intravenöser Injektion kleinster Gaben gegründet. Da die Drucksteigerung bekanntlich eine flüchtige ist und da der Blutdruck nach kleinen Gaben rasch wieder zum Ausgangswert zurückkehrt, so kann man die Wirkung wechselnder Konzentrationen der zu untersuchenden Probe in mehrfachen Injektionen mit der Wirkung bekannter Adrenalinmengen am gleichen Tiere vergleichen. Die Voraussetzung dieses Verfahrens, daß der Ausschlag der Blutdrucksteigerung für eine bestimmte Adrenalindosis auch bei öfterer Wiederholung der Injektion ungefähr gleich groß ausfällt, trifft nach unseren Erfahrungen zu. Doch gilt die Konstanz der Blutdruckwirkung nur für die einzelnen Injektionen an dem gleichen Versuchstier und gilt nur für Versuche mit nicht allzulanger Dauer und mit nicht allzu hohen

[1]) *Cannon* und *de la Paz*, American Journal of Physiol. Vol. 28. p. 64 (1911).

Dosen. Die verschiedenen Individuen derselben Tierart zeigen dagegen eine viel zu schwankende Empfindlichkeit, um den Vergleich der Ausschläge an einem Tier mit denen an einem anderen zu gestatten.

Die **Ausführung** der Adrenalinbestimmung am Blutdruck ist rasch und bequem. Der besseren Vergleichbarkeit halber benützt man zweckmäßig immer die gleiche Flüssigkeitsmenge zur Injektion und variiert in den Versuchen nur die Konzentration der Lösungen. Die Injektionen müssen ferner mit ungefähr gleicher Geschwindigkeit ausgeführt werden, wobei man sich zweckmäßig nach den Schlägen eines Metronoms richtet (*Asher* und *Flack*).[1] Man verdünnt die unbekannte Lösung solange, bis wenige Kubikzentimeter eine noch deutliche, aber kurz vorübergehende Blutdrucksteigerung hervorrufen. Allzu stark wirksame Lösungen sind weniger zum Vergleiche geeignet. Der blutdrucksteigernde Effekt der unbekannten Probe wird mit dem Ausschlag bekannter Adrenalinlösungen verglichen, die man vorher und nachher injiziert. Man muß sich jedoch durch häufig wiederholte Injektionen der Adrenalintestlösung in jedem Falle davon überzeugen, daß die Empfindlichkeit des Versuchstiers gleich geblieben ist. In langdauernden Versuchen kann dieselbe schwanken. Es ist zweckmäßig, nach dem Vorgange von *Elliott*[2]) die mit den Testlösungen verschiedener Konzentration gewonnenen Werte der Blutdrucksteigerung auf die Ordinate eines Ordinatensystems aufzutragen — vgl. das beistehende Beispiel — und so eine Kurve zu gewinnen, welche die Blutdrucksteigerung für das betreffende Tier darstellt. Aus dem Blutdruckwert der unbekannten Lösung läßt sich danach ihr Adrenalinwert unmittelbar ablesen. Es empfiehlt sich, die Testlösungen immer unmittelbar vor dem Gebrauche aus einer Stammlösung herzustellen. Uns hat sich als Stammlösung eine Lösung von L. Suprareninum synthetic. cryst. puriss. *Höchst* sehr gut bewährt. 0·01 *g* dieses Präparates, mit Zusatz von 1·25 *cm*³ $\frac{1}{10}$-N-Salzsäure in 125 *cm*³ 0·9%/₀iger reiner Kochsalzlösung gelöst, erwies sich als gut haltbar.

Fig. 184.



Adrenalinbestimmung durch Blutdruckversuch.
Abszisse: Verwendete Adrenalinlösungen, resp. Nebennierenblut (1 *cm*³).
Ordinate: Steigerung des Blutdruckes um *mm* Hg.

Zur Adrenalinbestimmung mit Hilfe des Blutdruckversuchs hat man zunächst den Hund als Versuchstier benützt (*Cybulski* und *Szymonowicz*[3]). *Elliott*[2]) verwendet Katzen, wir selbst haben Erfahrungen über das Ka-

[1]) *Asher* und *Flack*, Zeitschr. f. Biol. Bd. 55. S. 83 (1911).
[2]) *Elliott*, Journal of Physiol. Bd. 32. S. 401 (1905).
[3]) *Cybulski* und *Szymonowicz*, *Pflüger*s Archiv. Bd. 64. S. 96 (1896).

ninchen als Versuchstier. *Trendelenburg*[1]) benützt neuerdings Meerschweinchen. Hat man die Wahl, so wird es sich empfehlen, für die Adrenalinbestimmung im Blute einer Tierart auch für den Blutdruck die gleiche Tierart zu benützen. Um von einem möglichst konstanten Drucke ausgehen zu können, narkotisiert man die Versuchstiere oder bedient sich wie *Elliott*[2]) dezerebrierter Tiere.

Die Methode ist auch vielfach zur Bestimmung des Adrenalingehalts von Nebennierenextrakten benützt worden. Zu diesem Zwecke wurde sie z. B. von *Kahn*[3]), *Tscheboksaroff*[4]) und *Elliott*[2]) verwendet. Für Blut hat sie speziell zum Nachweis und zur Bestimmung des Adrenalins im Nebennierenvenenblute gute Dienste geleistet. Dabei verwandte z. B. *Dreyer*[5]) größere Mengen — bis 40 *cm*³ Blut — am Hunde, während *Tscheboksaroff* mit 10 *cm*³ ausreichte. Bei kleineren Versuchstieren bedarf es gar nicht einer so großen Blutmenge, um deutliche Blutdrucksteigerung durch Nebennierenvenenblut zu erzielen; *Trendelenburg*[6]) fand 0·5 *cm*³ Nebennierenvenenserum am Meerschweinchen wirksam, *O'Connor*[7]) 1 *cm*³ Vollblut an Kaninchen.

In bezug auf die Spezifität ist die Blutdruckmethode ziemlich zuverlässig. Es gibt wenige Substanzen, welche im Blut vorkommen können und Blutdrucksteigerung hervorrufen. Andrerseits darf man die Möglichkeit nicht außer acht lassen, daß auch blutdrucksenkende Substanzen im Blute enthalten sein können. Sie sind sogar durch *Tscheboksaroff*[4]) im normalen Serum nachgewiesen und dürften bei der Gerinnung in dasselbe gelangen. Ihre Wirkung müßte den Ausschlag bei der Adrenalinwirkung verringern. Es ist also auch für die Blutdruckmethode zu empfehlen, nicht mit Serum, sondern mit ungerinnbarem Blut oder mit Plasma zu arbeiten.

Durch den Parallelismus zwischen Größe des Ausschlags und angewandter Konzentration von Adrenalin, d. h durch ihre quantitative Genauigkeit, ist die Blutdruckmethode besonders geeignet, auch weniger grobe Unterschiede in den Adrenalinmengen festzustellen. Der Unterschied zwischen der Blutdrucksteigerung z. B. durch eine Adrenalinlösung von 1 : 1 Million und der Größe des Ausschlags durch eine 2mal so starke Lösung ist so bedeutend, daß die Interpolation für den Blutdruckwert der unbekannten Probe mit großer Sicherheit erfolgen kann.

Dagegen ist die Empfindlichkeit der Blutdruckmethode, d. h. ihre Eignung, noch kleinste Adrenalinmengen anzuzeigen, nicht sehr groß. Bei Kaninchen z. B. fanden wir bei einer Injektionsmenge und Injektionszeit von 1 *cm*³ 1 : 4 Millionen in 3 Sekunden die Grenze deutlicher Wirkung. Selten bekommt man noch eine geringe Drucksteigerung durch

[1]) *Trendelenburg,* Zeitschr. f. Biol. Bd. **57**. S. 90 (1911).

[2]) *Elliott,* Proceed. Physiol. Soc. S. XXXII in Journ. of Physiol. Bd. **43** (1912).

[3]) *Kahn, Pflüger*s Archiv. Bd. **140**. S. 209 (1911).

[4]) *Tscheboksaroff, Pflüger*s Archiv. Bd. **137**. S. 59 (1910).

[5]) *Dreyer,* Americ. Journal of Physiol. Bd. **3**. S. 203 (1898).

[6]) *Trendelenburg,* Zeitschr. f. Biol. Bd. **57**. S. 90 (1911).

[7]) *O'Connor,* Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **67**. S. 222 (1912).

Adrenalinlösungen von 1 : 6 Millionen. Deshalb ist es begreiflich, daß die Methode bei der Anwendung von normalem Karotisblut keinen Ausschlag mehr gibt, da normales Karotisplasma jedenfalls weniger als 1 : 20 Millionen Adrenalin enthält *(O'Connor)*. Vorher konzentriertes Karotisblut hat dagegen *Batelli* (a. a. O.) positive Resultate bei der Injektion ergeben, die aber infolge der vorausgegangenen Behandlung des Blutes nicht einwandsfrei erscheinen. Überzeugende Ausschläge gibt die Blutdruckmethode bei der Anwendung von Nebennierenvenenblut; sie könnte auch mit Vorteil zur Bestimmung des nach Adrenalininjektion noch zirkulierenden Adrenalins verwendet werden. Im Serum des Nebennierenvenenbluts hatten schon *Cybulski* und *Szymonowicz* (a. a. O.) sowie *Dreyer, Biedl* u. a. die Gegenwart des Adrenalins mittelst der Blutdruckmethode nachgewiesen; quantitative Bestimmungen im Serum des Nebennierenvenenblutes hat *Trendelenburg* angestellt. Wir werden weiter unten auseinanderzusetzen haben, daß wie bei andern Bestimmungsmethoden auch hier die quantitativen Angaben nur völlig einwandsfrei sind, wenn sie nicht mit Serum, sondern mit Plasma gewonnen sind. Unter den Serumversuchen kommt aber gerade jenen die stärkste Beweiskraft zu, die mit der Blutdruckmethode angestellt sind.

Adrenalinbestimmung nach der Meltzer-Ehrmannschen Pupillenmethode.

Diese Methode beruht auf der Eigenschaft des Adrenalins, eine Erweiterung der Pupille des enukleierten Froschauges hervorzurufen. Daß Adrenalin eine Pupillenwirkung bei der Katze besitzt, wurde zuerst von *Lewandowski*[1]) hervorgehoben. Diese Feststellung wurde sodann durch *Langley*[2]) und *Wessely*[3]) auf andere Tierarten ausgedehnt. *Wessely* beobachtete auch schon die Pupillenerweiterung am Frosch und konstatierte, daß die Wirkung auch am enukleierten Auge eintritt. *Meltzer* und *Auer*[4]) stellten dann ausgedehntere Untersuchungen über die Pupillenwirkung an. Sie beobachteten unter anderem den Eintritt der Pupillenwirkung am ausgeschnittenen Froschauge und wiesen darauf hin, daß diese Wirkung zu einer Methode des Adrenalinnachweises dienen könnte. *Ehrmann*[5]) stellte fest, daß die Iris des ausgeschnittenen Auges eine weit größere Empfindlichkeit gegen Adrenalin besitzt, analog der gesteigerten Adrenalinempfindlichkeit des in situ belassenen Auges nach Exstirpation des Ganglion cervicale. Auf Grund dieser Beobachtung hat dann *Ehrmann* die Methode des Adrenalinnachweises am enukleierten Bulbus ausgearbeitet.

Die Methode ist bequem auszuführen und hat infolgedessen besonders zu klinischen Zwecken vielfach Anwendung gefunden. In ihrer einfachen Ausführung hat sie jedoch den Nachteil, dem subjektiven Ermessen allzu großen Spielraum zu lassen.

---

[1]) *Lewandowski*, Archiv f. Anat. u. Physiol. S. 360 (1899).
[2]) *Langley*, Journal of Physiol. Bd. **27**. S. 237 (1901).
[3]) *Wessely*, Deutsche med. Wochenschr. S. 1018 (1909).
[4]) *Meltzer* und *Auer*, Amer. Journal of Physiol. Bd. **11**. S. 448 (1904).
[5]) *Ehrmann*, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **53**. S. 97 (1905).

Nach *Ehrmanns* Vorgang genügt es, die ausgeschnittenen Froschbulbi von Temporarien, die einige Stunden im Dunkeln und in der Kälte aufbewahrt waren, der Einwirkung von Adrenalinlösungen unbekannter Konzentration und von bekannten Kontrollösungen auszusetzen und Zeit und Stärke der auftretenden Mydriasis durch Vergleich mit dem Kontrollauge festzustellen, das ohne Adrenalin den gleichen Belichtungsverhältnissen ausgesetzt wird. Da sich die Pupille auch in einer 0·6%igen Kochsalzlösung beträchtlich erweitert, so empfiehlt es sich, nicht Kochsalzlösung, sondern Serum für die Kontrollaugen und als Flüssigkeit für den Adrenalinzusatz zu verwenden, wie dies *Ehrmann* ursprünglich angegeben hat.[1]) Man nimmt die Reaktion am bequemsten in kleinen Trichterchen vor, in denen die Bulbi mit der Pupille nach oben der Einwirkung der Lösung ausgesetzt werden. Normales Karotisserum erweitert die Pupille des Froschauges nicht, wohl aber das Serum des Nebennierenvenenbluts. Die Empfindlichkeit der Reaktion genügte, daß *Ehrmann* mit ihrer Hilfe den quantitativ höheren Gehalt des Nebennierenvenenblutes erweisen konnte.

Man bestimmt durch Zusatz verschiedener Adrenalinmengen zum Serum die geringste Konzentration, die an dem einen Auge eines Augenpaares eben noch deutliche Erweiterung hervorzurufen vermag. Damit vergleicht man die Verdünnung z. B. von Nebennierenserum, die in einem analogen Versuche an einem anderen Augenpaar noch einen Ausschlag gibt. Die beiden eben wirksamen Konzentrationen sind einander gleichzusetzen. Zu einer zuverlässigen Feststellung der eben noch wirksamen Konzentration sind immer mehrere Augenpaare notwendig. Selbstverständlich muß eine Veränderung der Belichtung während der Versuche, die man miteinander vergleichen will, vermieden werden.

Weitere Ausbildung hat die Methode durch *Schultz*[2]) und *Kahn*[3]) erfahren. *Kahn*, der die verschiedenen Fehlerquellen der Methode ausführlich bespricht, empfiehlt zu einer objektiveren Darstellung der Resultate zu photographieren. *Schultz* hat bei geringer Vergrößerung mikrometrisch gemessen. Wahrscheinlich genügt für alle Fälle der neuerdings von *Joseph*[4]) empfohlene Vergleich der Pupillenweite mittelst eines einfachen Pupillometers.

Zur Auswertung von Adrenalinlösungen ist die Methode hinreichend genau.[5]) Bei der Anwendung auf die geringen Adrenalinmengen, die im Blute vorkommen können, hat sie aber Fehlerquellen, die schon mehrfach zu Irrtümern geführt haben.

Unseres Erachtens ist der Nachteil der Methode weniger in dem Momente der Subjektivität zu sehen, als vielmehr in der Schwierigkeit,

[1]) Vgl. auch *Siegel*, *Pflüger*s Archiv. Bd. 138. S. 617 (1911).

[2]) *Schultz*, Hygienic laborat. (Washington.) Bulletin. Nr. 55. S. 1 (1909).

[3]) *Kahn*, *Pflüger*s Archiv. Bd. 128. S. 519 (1909).

[4]) *Joseph*, Journ. of exp. Med. Bd. 15. S. 644 (1912).

[5]) Vgl. auch *Abderhalden* und *Thies*, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 59, S. 25 (1909), sowie *R. Cords*, „Die Adrenalinmydriasis und ihre diagnostische Bedeutung“. Wiesbaden 1911.

die Pupillen empfindlich zu machen und gleiche Bedingungen der Belichtung einzuhalten. *Ehrmann* benützte in der Kälte und im Dunkeln gehaltene Winterfrösche (Temporarien). Er ließ die enukleierten Bulbi auf Eis liegen und betrachtete sie in der Beleuchtung durch eine gleichmäßige künstliche Lichtquelle. *Kahn* arbeitete bei Tageslicht. *Schultz* schließt dagegen das Tageslicht aus und setzt die Bulbi, um wirklich gleichmäßige Beleuchtung zu erzielen, künstlicher Beleuchtung in einem sonst dunklen Raume aus und hält sie gleichzeitig bei konstanter niedriger Temperatur. Auch weist er darauf hin, daß mechanische Reizung während der Versuche zu vermeiden ist.

Die Methode ergibt bei sorgfältiger Ausführung brauchbare Resultate. Dies wird schon dadurch erwiesen, daß *Ehrmann* mit ihrer Hilfe für das Nebennierenvenenserum ungefähr die gleichen Adrenalinwerte erhielt, die durch spätere Beobachtungen mittelst anderer Bestimmungsmethoden bestätigt wurden (*Trendelenburg*[1]), *O'Connor*[2]). Dagegen kann die Pupillenmethode leicht irreführen, wenn man sie nicht mit der genügenden Anzahl von Augenpaaren ausführt. Dadurch dürfte es sich erklären, daß manche klinische Angaben, die mit der Methode gewonnen sind, sich nicht weiter bestätigt haben. Wir erinnern an die Angabe von *Schur* und *Wiesel*[3]) über den erhöhten Adrenalingehalt von Nephritikerblut; andere, gewiß noch empfindlichere Methoden (*Fraenkel*[4]) am Uterus, *Trendelenburg*[5]) an den Froschgefäßen) haben ihn übereinstimmend normal gefunden. Die Angabe, daß das Blutserum Glaukomkranker die Froschpupille erweitere, hat sich als irrtümlich erwiesen (*Vogt* und *Jaffe, Löhlein*[6]).

Kraus und *Friedenthal*[7]) haben mittelst der Pupillenmethode gefunden, daß das Serum von Basedowkranken eine erhöhte Wirksamkeit besitzt, und für Serum (nicht für Plasma!) hat sich dies auch durch andere Methoden erweisen lassen (*Fraenkel* a. a. O.).

Die Spezifität der Reaktion für Adrenalin ist eine genügende. Wenn auch andere Substanzen die Fähigkeit besitzen, die Froschpupille zu erweitern, so trifft dies doch für keine bisher bekannte Substanz in derartigen Verdünnungen zu, in denen Adrenalin noch wirksam ist. Andrerseits kann man es nicht für ausgeschlossen halten, daß unter pathologischen Bedingungen Substanzen auftreten können, die eine ähnliche Wirkung auf die Pupille besitzen.

Dagegen ist die Empfindlichkeit der Pupillenmethode nicht sehr groß. Als Grenze wird von *Ehrmann* 1 : 10 Millionen angegeben. Doch scheint die Empfindlichkeit, wie man das erwarten konnte, je nach der

[1]) *Trendelenburg*, Zeitschr. f. Biol. Bd. **57**. S. 90 (1911).

[2]) *O'Connor*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **67**. S. 195 (1912).

[3]) *Schur* und *Wiesel*, Wiener klin. Wochenschr. 1907. Nr. 40.

[4]) *Fraenkel*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **60**. S. 395 (1909).

[5]) *Trendelenburg* und *Bröcking*, Arch. f. klin. Med. Bd. **103**. S. 168 (1911).

[6]) *Vogt* und *Jaffe*, Monatsblätter für Augenheilkunde. Bd. **14**. S. 23 (1912); *Löhlein*, Ophthalmologenkongreß Heidelberg 1912.

[7]) *Kraus* und *Friedenthal*, Berliner klin. Wochenschr. 1908. Nr. 38.

Froschart, Jahreszeit etc. verschieden zu sein. So gibt z. B. *Schultz*[1]) für Rana pipiens an, daß die Erweiterung, welche gelegentlich bei einer Konzentration von 1 = 625.000 oder etwas schwächeren Lösungen vorhanden ist, für quantitative Bestimmungen kaum mehr ausreichend sei. Man kann, wie es scheint, die Empfindlichkeit der Reaktion wesentlich steigern, wenn man anstatt der ganzen Bulbi die bloßgelegte Iris benützt; die Empfindlichkeit soll dann bis zu 1 : 100 Millionen gehen (*Hoskins*[2]).

Wie alle Methoden, welche von der Bestimmung der eben noch wirksamen Verdünnung ausgehen, eignet sich auch die Pupillenmethode nicht dazu, die Unterschiede in den Konzentrationen mit Schärfe anzugeben. *Ehrmann*[3]) sagt hierüber, daß mit Sicherheit nur der Unterschied zwischen der einfachen und etwa der zehnfachen Konzentration festzustellen sei. *Schultz* empfiehlt zur besseren Unterscheidung der verschiedenen Konzentrationen wirksamer Lösungen nicht die untere Grenze der Wirksamkeit, sondern die Zeit zu bestimmen, welche nötig ist, um maximale Erweiterung hervorzurufen. Diese Modifikation kann aber natürlich nur bei verhältnismäßig starken Lösungen, nicht aber bei Blut benützt werden.

Neue Beobachtungen von *Joseph*[4]) an der Kaninchenpupille dürften sich vielleicht zu einer Adrenalinbestimmung geeignet erweisen. Exstirpiert man das Ganglion cervicale der einen Seite am Kaninchen, so wird die Empfindlichkeit des betreffenden Auges für die mydriatische Wirkung des Adrenalins sehr vergrößert. Unter solchen Umständen erzeugt noch $^1/_{50}$ cm^3 einer Adrenalinlösung 1 : 1000 bei der Injektion in die Ohrvene eine meßbare Erweiterung. Inwieweit die Methode für verdünntere Lösungen brauchbar ist, ist noch nicht untersucht. In bezug auf die Spezifität dürfte sie einwandfrei sein, denn es gibt wohl kaum eine andere Substanz im Blute, die in so geringer Menge gerade nach der Abtrennung der Endapparate der Iris vom zentralen Nervensystem eine mydriatische Wirkung entfaltet. Die Empfindlichkeit dürfte allerdings nicht so groß sein wie die anderer Methoden. Versuche über die Anwendbarkeit auf Blut liegen noch nicht vor.

Adrenalinbestimmung an überlebenden Arterienstreifen.

Eine dritte Methode, die Bestimmung an überlebend gehaltenen Streifen der Carotis oder Subclavia des Rindes, hat *O. B. Meyer*[5]) angegeben. Man spannt das Präparat in einem kleinen mit Ringerlösung gefüllten Gefäße zwischen Klemme und Häkchen auf und setzt das Häkchen mit einem Hebel in Verbindung. Durch die bei Körpertemperatur gehaltene *Ringer*sche Flüssigkeit wird Sauerstoff hindurchgeleitet. Bei Zusatz der zu untersuchenden Blutprobe zur *Ringer*schen Lösung erhält man eine Kontraktion der glatten Muskulatur, deren Stärke der Hebel aufzeichnet. Man vergleicht

[1]) *Schultz*, Hygienic laborat. (Washington.) Bulletin. Nr. 55 (1909).
[2]) *Hoskins*, Journ. of Pharm. u. exp. Ther. Bd. 3. S. 93 (1911).
[3]) *Ehrmann*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 55. S. 39 (1906).
[4]) *Joseph*, Journ. of exp. Med. Bd. 15. S. 644 (1912).
[5]) *O. B. Meyer*, Zeitschr. f. Biol. Bd. 48. S. 353 (1906).

den Ausschlag mit dem verschiedener Adrenalinlösungen an dem gleichen Objekte. Nach *Loening*[1]) ist die Sauerstoffsättigung von großer Bedeutung für den Ausfall der Stärke der Adrenalinreaktion.

Die Methode ist schwierig auszuführen. So fand *Fr. Müller*[2]) viele Präparate adrenalinunempfindlich. Nach *Schlayer*[3]) sollen die Resultate regelmäßiger ausfallen, wenn man nicht das Serum einer anderen Tierart, sondern das derjenigen Tierart benützt, von der der Arterienstreifen stammt.

Die Spezifität der Methode ist jedenfalls nicht groß. Alle Substanzen, welche glatte Muskeln zur Kontraktion bringen, müssen auch auf den Gefäßstreifen einwirken. Solche Substanzen sind vor allem im Blutserum nachgewiesen worden und gelangen in dasselbe bei der Gerinnung (*O'Connor*[4]), so daß man zu den Untersuchungen an diesem Objekte nicht Blutserum verwenden darf, wenn man nicht bloß Vergleichswerte, sondern absolut richtige Adrenalinwerte erhalten will. *Loening*[1]) fand die adrenalinähnlichen Substanzen des Serums aber nur wirksam bei Sauerstoffgegenwart. Inwieweit Blutplasma bei der Methode verwendbar ist, ist noch nicht untersucht.

Die Empfindlichkeit der Reaktion ist eine sehr hohe. Nach *O. B. Meyer* sollen gute Präparate noch auf eine Verdünnung von 1:100 Millionen ansprechen.

Adrenalinbestimmung am überlebenden Kaninchenuterus.

Diese zuerst von *A. Fraenkel*[5]) angewandte Methode ist ähnlich der Bestimmung an den Arterienstreifen zu beurteilen. Sie beruht auf der hohen Empfindlichkeit des Kaninchenuterus auf Adrenalin. Noch kleinste Gaben erzeugen Tonussteigerung und lebhafte Kontraktionen der Uterusmuskulatur, die in ähnlicher Weise wie die Kontraktionen der Darmmuskulatur nach *Magnus* bequem aufgezeichnet werden können (*E. Kehrer*[6]).

Ein Nachteil der Methode liegt in der schwierigen Materialbeschaffung; weder der virginale noch der hochträchtige Uterus ist brauchbar. Zur Entnahme wird der Uterus mit möglichster Schonung abpräpariert und sogleich in mit Sauerstoff gesättigte Ringerlösung gebracht, die auf Körpertemperatur gehalten ist. Einzelne Stücke des Uterushorns werden dann, ganz ähnlich wie dies oben von den Arterienstreifen geschildert wurde, in einem Gefäßchen mit Ringerlösung fixiert, durch die Sauerstoff hindurchperlt; die normalen Pendelbewegungen werden mittelst eines Hebels auf das Kymographion verzeichnet. In der Regel beginnen die rhythmischen Bewegungen bei gut erregbaren Objekten bald einzusetzen.

[1]) *Loening*, 83. Naturforscherversammlung. Karlsruhe 1911.

[2]) *Fr. Müller*, Arch. f. Physiol. Supplement. S. 411 (1906).

[3]) *Schlayer*, Münchener med. Wochenschr. Nr. 50 (1908); vgl. dagegen *Loening*, a. a. O.

[4]) *O'Connor*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **67**. S. 195 (1912).

[5]) *Fraenkel*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **60**. S. 395 (1909).

[6]) *Kehrer*, Arch. f. Gyn. Bd. **81**. H. 1 (1907).

Wenn sie einigermaßen regelmäßig geworden sind, kann zum Versuche geschritten werden. Durch eine geeignete Vorrichtung wird der rasche Wechsel der Flüssigkeit in dem Gefäßchen ermöglicht. Adrenalin bewirkt noch in der Verdünnung von 1 : 20 Millionen Verstärkung der Pendelbewegungen und vor allem Tonussteigerung, deren lange Dauer für Adrenalin charakteristisch ist. Da manche übererregbare Präparate schon bei dem einfachen Wechsel der Flüssigkeit (Temperaturunterschied beim Entblößen des Präparats) Schwankungen des Tonus und der Pendelbewegungen zeigen, so ist die Beurteilung des Adrenalineffektes in manchen Fällen nicht ganz leicht. Zur Bestimmung von Blut wird die stärkste Verdünnung aufgesucht, die an dem betreffenden Uterusstreifen noch einen deutlichen Ausschlag gibt. Dazwischen ermittelt man die eben noch wirksame Konzentration reiner Adrenalinlösung. Der Adrenalingehalt der Blutprobe nach der stärksten, noch wirksamen Verdünnung ist der stärksten Verdünnung reinen Adrenalins gleichzusetzen, die an dem Präparate noch wirkt.

In bezug auf die Spezifität für Adrenalin ist die Uterusmethode ähnlich der Arterienstreifenmethode zu bewerten. Beide sind Erregungsreaktionen der glatten Muskulatur, und die erregende Wirkung auf dieselbe kommt nicht bloß dem Adrenalin zu, sondern auch manchen anderen Substanzen, die im Blute vorkommen können. Auch die bei der Gerinnung freiwerdenden Substanzen, die an das β-Imidazolyläthylamin[1] erinnern, und die das Adrenalin im Serum begleiten, wirken wie auf die Arterienstreifen auch auf den Uterus ein, so daß die im Serum gewonnenen Werte nur relative Geltung beanspruchen können. Zitratplasma und Hirudinplasma gerinnen im Kontakt mit dem Gewebe, so daß einer Ausarbeitung der Methode für Plasma Schwierigkeiten entgegenstehen.

Adrenalinbestimmung am Froschgefäßpräparat.

Diese jetzt am meisten gebrauchte Methode beruht auf der großen Empfindlichkeit der Froschgefäße für Adrenalin. Die periphere vasokonstriktorische Wirkung des Adrenalins auf die Froschgefäße wurde von *Laewen*[2]) zuerst beobachtet und die Herstellung eines passenden Präparates von ihm angegeben. Durch *Trendelenburg*[3]) ist die Methode zur Bestimmung des Adrenalingehaltes im Blute ausgearbeitet worden. Die hinteren Extremitäten eines Frosches werden von der Aorta aus mit *Ringer*scher Lösung durchspült und die von der Vena abdominalis ausfließenden Tropfen registriert oder gezählt. Die Tropfenzahl in der Minute ist das Maß für die Gefäßweite. Bei Zusatz von Adrenalin zur Durchspülungsflüssigkeit nimmt die Durchflußgeschwindigkeit erheblich ab.

Trendelenburg bestimmt die Wirksamkeit von Blutserum. Da aber das Serum, wie schon öfters erwähnt, bei der Gerinnung entstandene, auf

[1]) *Dale* und *Laidlaw*, Journ. of Physiol. Bd. **41**. S. 318 (1911).
[2]) *Laewen*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **51**. S. 415 (1904).
[3]) *Trendelenburg*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **63**. S. 161 (1910).

glatte Muskeln wirksame Substanzen enthält, die im nativen Blute nicht vorkommen, so geben die Bestimmungen nur dann Auskunft über die wahren Adrenalinwerte im Blute, wenn man nicht Serum, sondern Plasma zur Bestimmung verwendet. Blutserumversuche sind nur geeignet, relative Vergleichswerte zu gewinnen; so konnte z. B. *Trendelenburg*[1]) auch mit Blutserum den höheren Gehalt des Nebennierenvenenblutes an Adrenalin dartun.

Aus eigener Erfahrung empfehlen wir die Verwendung von Zitratplasma und schildern im folgenden die Ausführung solcher Plasmaversuche am *Trendelenburg*schen Präparat.

Die besten Präparate erhält man bei Verwendung männlicher Esculenten von etwa 70 *g* Gewicht. Die Tiere werden dekapitiert und das Rückenmark sehr gründlich durch Ausbohrung zerstört; sonst kommen während des Versuches leicht störende Schwankungen in der Gefäßweite vor. Zur Herstellung des Präparates wird die Bauchhaut abpräpariert und ein etwa 1 *cm* breiter, die Vena abdominalis enthaltender Lappen der Bauchwand von oben nach unten zu ausgeschnitten und zurückgeschlagen. Dann wird der Magen und das ihn umgebende Gewebe durchschnitten und die ganzen Eingeweide unter Schonung der Aorta von der hinteren Bauchwand von oben nach unten zu abpräpariert. Dazu muß man das Mesenterium durchschneiden, welches die Nieren und Ureteren mit der seitlichen Bauchwand verbindet; der Schnitt darf hier nicht weiter als bis zum unteren Ende der Niere reichen, sonst wird das Präparat bei der Durchspülung undicht. Die Eingeweide hängen nun mit dem übrigen Froschkörper nur noch durch einen, das Rektum, die Blase, die Ureteren und Venae advehentes enthaltenden Stiel zusammen. Dieser Stiel wird möglichst nahe an seiner Wurzel abgebunden und durchschnitten. Sodann wird eine dünne Kanüle in die Aorta vor ihrer Teilung eingeführt und mit der Durchleitungsflüssigkeit gefüllt. Zuletzt setzt man eine möglichst weite Kanüle in die Vena abdominalis ein. Zum Versuche wird die Aortenkanüle mit dem Durchleitungsapparat in Verbindung gesetzt, der aus einer *Mariotte*schen Flasche besteht, von welcher die Durchleitungsflüssigkeit, und zwar für Plasmaversuche *Ringer*sche Lösung mit Zusatz von 0·5% Natriumzitrat durch einen Gummischlauch ausfließen kann. Der Schlauch endet mit einem T-Rohr mit einem kurzen T-Ansatz, auf welchen eine 1 cm^3-Spritze mit Gummischlauch adaptiert ist, während der dritte Schenkel des T mit der Aortenkanüle des Frosches unter Vermeidung von Luftblasen verbunden wird. Das Präparat wird sodann $1^1/_2$ Stunden durchleitet, bevor der eigentliche Versuch beginnt. Immer muß sorgfältig darauf geachtet werden, daß die Vena abdominalis während der Durchleitung weder abgeknickt, noch komprimiert wird; entstehendes Ödem macht einen guten Versuch unmöglich.

Nach Ablauf von $1^1/_2$ Stunden ist das Präparat am besten für die Versuche geeignet. Man setzt nun auf die Ausflußkanüle einen Gummi-

[1]) *Trendelenburg,* Zeitschr. f. Biol. Bd. 57. S. 90 (1911).

schlauch, der ein Glasrohr mit ausgezogener Spitze trägt, deren Öffnung man so wählt, daß die Tropfen bei einem Druck von 15—25 *cm* Wasser mit einer Schnelligkeit von 40—60 in der Minute von der ausgezogenen Spitze abfallen. Wenn die Tropfenzahl während einiger Zeit sich als konstant erwiesen hat, kann man an den Auswertungsversuch gehen.

Für die meisten Fälle ist es am besten, zunächst den vasokonstriktorischen Effekt einer Adrenalinlösung von 1:4 Millionen an dem Präparate zu prüfen. Die Tropfenzahl wird während einer Minute vor der Injektion gezählt, sodann 1 cm^3 der Adrenalinlösung durch die Spritze in 15 Sekunden injiziert; während dieser Zeit wie in der nächstfolgenden Viertelminute werden die Tropfen nicht gezählt. In der zweiten Hälfte der Injektionsminute und in den folgenden Minuten wird fortlaufend gezählt, bis die Tropfenzahl pro Minute den niedrigsten Punkt erreicht hat und wieder zu steigen beginnt. Die Rückkehr zur normalen Tropfenzahl erfolgt meist schon nach 4 Minuten. Um den Verlauf des Rückgangs zu verfolgen, zählt man die Tropfen alle paar Minuten. Die Normalzahl wird in 10—30 Minuten wieder erreicht. Sodann kann die zu untersuchende Blutprobe geprüft werden.

Zur Gewinnung des Plasmas wird das Blut in der gleichen Menge 2%iger Natriumzitratlösung in Ringer aufgefangen. Zur sicheren Vermeidung von Gerinnung muß man, wenn das Blut z. B. aus einer Vene langsam ausfließt, gut mit Vaselin ausgestrichene Kanülen benützen; bei schnellem Ausfließen des Blutes ist dies nicht unbedingt nötig. Die Probe wird zentrifugiert und das Plasma nochmals mit der gleichen Menge *Ringer*scher Lösung verdünnt. 1 cm^3 dieses 4fach verdünnten Plasmas wird zur Injektion verwendet. Je nachdem nun die Wirkung stärker oder schwächer ausfällt, als der unmittelbar vorher festgestellte Wirkungseffekt von 1:4 Millionen Adrenalin an demselben Präparat, injiziert man dann zu weiteren Vergleichen entweder 1:2 Millionen oder 1:8 Millionen Adrenalin. Durch mehrfache Wiederholung resp. durch weitere Ausdehnung solcher Vergleiche sucht man das Resultat zu sichern, da insbesondere dadurch Irrtümer vorkommen können, daß sich die Empfindlichkeit des Präparates während des Versuchs ein wenig ändert. Bei den meisten Präparaten gelingt es auf diese Weise festzustellen, daß die Stärke der Blutprobe zwischen dem Wirkungswerte von 2 Adrenalinlösungen liegt, deren Konzentration nicht allzu sehr voneinander abweicht, z. B. zwischen 1:1 Million und Adrenalin 1:2 Millionen.

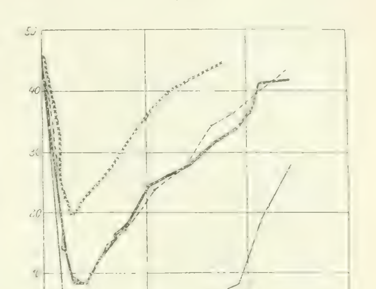
Es ist darauf zu achten, daß der Ausgangspunkt der bei den einzelnen Injektionen gewonnenen Kurven sich während des Versuchs nicht wesentlich ändert. Ist dies durch Veränderung der Empfindlichkeit des Präparats, durch Ödembildung etc. dennoch der Fall, so tut man gut, die ursprüngliche Tropfenzahl durch Heben oder Senken der *Mariotte*schen Flasche wieder herzustellen.

Der besseren Übersicht halber ist es zweckmäßig, die Versuchsresultate in Form einer Kurve darzustellen. Wir geben nachstehend ein Beispiel.

Bei der Mitteilung der Methode hat *Trendelenburg* empfohlen, die Tropfenfolge auf dem Kymographion zu registrieren. Wir halten dies für unnötig. Hingegen ist es

unter allen Umständen auch bei der graphischen Registrierung notwendig, sich durch Zählung sogleich über den Versuchsverlauf Rechenschaft zu geben, weil man die Vergleichsinjektionen von Adrenalin je nach dem Effekt der vorhergeprüften Proben zu variieren hat.

Fig. 185.



Adrenalinbestimmung am Froschpräparat.
1: 5 Mill. Adrenalin.
Nebennierenvenenplasma, viermal verdünnt.
1 : 10 Mill. Adrenalin.
1 : $2^1/_2$ Mill. Adrenalin.
Nebennierenvenenblut gleich etwa 1—$1^1/_4$ Mill. Adrenalin.

Die Spezifität der Methode ist nicht sehr groß, weil es abgesehen vom Adrenalin sicher noch andere Substanzen gibt, die im Blute vorkommen können und die auf glatte Muskeln tonussteigernd wirken. Alle Methoden, welche die Bestimmung des Adrenalins auf diese verbreitete Eigenschaft der Erregung glatter Muskulatur gründen, sind nicht durchaus spezifisch. Weiterhin kann die Bestimmungsmethode am Froschgefäßpräparat Adrenalin vortäuschen, wo keines vorhanden ist, wenn man gezwungen ist, unverdünntes oder schwach verdünntes Plasma zu benützen, weil dann die Änderung der Viskosität der Flüssigkeit als eine Fehlerquelle in Betracht kommen kann. Bei der Verdünnung des Plasma im Verhältnis von 1:4 spielt diese Fehlerquelle allerdings auch nach unseren Erfahrungen praktisch keine Rolle. *Trendelenburg*[1]) schätzt die Bedeutung einer eventuellen Viskositätsvermehrung überhaupt gering ein; bei adrenalinarmen Blutsorten, die unverdünnt angewandt werden müssen, kann nach unserer Meinung diese Fehlerquelle aber nicht ausgeschlossen werden.

Die Sicherheit und Schärfe, mit welcher man die Wirkungsstärke einer Blutprobe mit der Froschgefäßmethode bestimmen kann, hängt von zwei Faktoren ab: Einerseits von der Konstanz in der Empfindlichkeit des Präparates und andrerseits von der völligen Gleichartigkeit aller anderen Bedingungen (Injektionsgeschwindigkeit!) des Versuches. Daß auch die letzteren Nebenumstände bei der Injektion von Bedeutung sind, ergibt sich daraus, daß die Kurven, die man an tadellosen Präparaten mit reinen Adrenalinlösungen gleicher Konzentration erhält, selten absolut identische sind. Auch die Ausschläge, welche Adrenalinlösungen verschiedener Konzentration hervorrufen, sind voneinander oft nur wenig verschieden. Wenigstens gilt dies für stark verdünnte Adrenalinlösungen, bei denen z. B. der Unterschied zwischen einer Injektion von Adrenalin 1:20 Millionen und einer anderen von Adrenalin 1:40 Millionen nur 2—3 Tropfen in der maximalen Verlangsamung beträgt. Es läßt sich deshalb bei der

[1]) *Trendelenburg*, Münchener med. Wochenschr. Nr. 36 (1911).

Bestimmung adrenalinarmer Blutsorten nicht immer mit Bestimmtheit sagen, ob die Wirksamkeit der Blutprobe, deren Kurve zwischen die beiden Adrenalinkurven fällt, näher an 1:20 Millionen oder näher an 1:40 Millionen liegt. Dazu kommt, daß die Empfindlichkeit des Präparats während langdauernder Versuche selten oder im Grunde genommen wohl niemals wirklich völlig konstant ist. Meist wird das Präparat während des Gebrauchs empfindlicher. Trotz dieser Fehlerquellen kann man den Wirkungswert einer Blutprobe mit der Froschgefäßmethode fast immer zwischen zwei Adrenalinlösungen eingrenzen, welche zueinander im Verhältnis von 1:2 stehen. Wenigstens gilt dies für Proben bis zu dem Gehalte von 1:20 Millionen Adrenalin. Oberhalb dieser Grenze, d. h. bei noch adrenalinärmeren Proben, nimmt die Sicherheit der Angabe ab.

Immerhin ist die Methode also imstande, auch die Unterschiede in der Wirkungsstärke der einzelnen Blutproben in genügender Weise zu ermitteln. Ihre Vorteile liegen in der großen Empfindlichkeit des Präparates bei einem hinreichenden Grade quantitativer Genauigkeit der Angaben. Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß die Methode bei wirklich sorgfältiger Ausführung recht zeitraubend ist.

Trendelenburg[1]) bestimmte am Froschgefäßpräparate den Gehalt des normalen Blutserums von Kaninchen, Katzen sowie auch vom Menschen zu 1:2½ Millionen Adrenalin. *O'Connor*[2]) hat jedoch gezeigt, daß die vasokonstriktorische Wirkung des Serums nicht allein auf Adrenalin beruhen kann. Unter anderem wird dies dadurch bewiesen, daß die Wirkung durch Erwärmen auf 37° und durch gleichzeitige 3—6stündige Sauerstoffdruckleitung nicht abgeschwächt wird, während zu Serum hinzugesetztes Adrenalin bei dieser Behandlung nach der gleichen Zeit unwirksam wird. Es sind demnach neben Adrenalin im Serum noch andere Substanzen enthalten, welche auf die glatten Muskeln der Gefäße, wie auch auf die des Uterus, tonussteigernd einwirken. Der Adrenalingehalt des peripheren Blutes ist nicht meßbar, wie die Unwirksamkeit seines Plasmas beweist. Die Adrenalinwirkung dagegen, die man bei Anwendung von Plasma des Nebennierenvenenbluts am Froschgefäßpräparat erhält, verschwindet durch 3—6stündige Durchleitung bei Sauerstoff bei Körpertemperatur vollständig, wodurch erwiesen wird, daß der Wirkungswert des Plasmas tatsächlich nur auf Adrenalin beruht.[3])

Immerhin kann man auch bei der Anwendung von Serum bedeutendere Unterschiede eines eventuellen Adrenalingehalts feststellen. So konnte *Trendelenburg*[4]) den höheren Gehalt des Nebennierenvenenblutes an Adrenalin trotz der Fehlerquelle der adrenalinähnlichen Substanzen im Serum erkennen. Vergleichende Versuche mit dem Blut desselben Tieres vor und nach einem Eingriff können, ohne absolut richtige Werte

[1]) *Trendelenburg*, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. 63. S. 161 (1910).

[2]) *O'Connor*, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. 87. S. 125 (1912).

[3]) *O'Connor*, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. 67. S. 195 (1912).

[4]) *Trendelenburg*, Zeitschr. f. Biol. Bd. 57. S. 90 (1911).

zu geben, für gewisse Fragestellungen beweisend sein, z. B. für die Frage einer Veränderung des Adrenalingehaltes durch den Zuckerstich (*Lopez*[1], *Kahn*[2]); doch muß man dabei die Annahme machen, daß die Menge der vasokonstriktorischen Substanzen, welche bei der Gerinnung frei werden, unter allen Bedingungen die gleiche ist. *Trendelenburg* und *Kahn* treten für diese Annahme ein.

Benutzt man dagegen Plasma zu der Bestimmung des Adrenalins in den verschiedenen Blutsorten, so erhält man jedenfalls ein zutreffendes Bild der Verteilung des Adrenalins im Kreislauf. Im peripheren Blut aus den Ohrvenen des Kaninchens sowie aus dem Karotisblut kann man Adrenalin überhaupt nicht in meßbaren Mengen konstatieren. Im Plasma der Nebennierenvenen schwanken die Werte bei Kaninchen zwischen 1:1 Million und 1:10 Millionen (*O'Connor*[3]); sind die Splanchnici durchschnitten, so nimmt die Sekretion bedeutend ab, ohne ganz zu verschwinden.[4]) Nach Splanchnikusdurchschneidung läßt sich also eine Verminderung erkennen, die nach Splanchnikusreizung im Plasma aus den Nebennierenvenen wieder deutlich zunimmt. Demgemäß hat *Asher*[5]) unter besonderen Bedingungen die verstärkte Sekretion auch am Blutdruck des Tieres selbst nachweisen können.

Zu Untersuchungen des pathologischen Blutes ist die Methode besonders von *Trendelenburg* und *Bröcking*[6]) herangezogen worden. Sie fanden unter anderem, daß die Wirksamkeit des Serums von Basedowkranken eine stärkere ist als die des normalen Menschenserums. Daß sich dieses Resultat aber nicht auf den Adrenalinwert des nativen Blutes bezieht, haben uns Versuche mit Basedowplasma erwiesen.[7]) Daß das Serum Basedowkranker auf die Pupillen, auf den Uterus und auf die Froschgefäße stärker einwirkt als normales, muß mit anderen Umständen, vielleicht mit dem besonderen Blutbilde der Krankheit in Zusammenhang stehen.

Die Froschgefäßmethode ist selbstverständlich auch abgesehen von der Adrenalinbestimmung im Blute auch zu anderen Untersuchungen über die Adrenalinwirkung ungemein geeignet. So hat sie schon *Laewen*[8]) für die Feststellung des Antagonismus einzelner Kokainersatzmittel gegen Adrenalin benutzt, und *Kepinow*[9]) hat neuerdings mittelst der Methode die Steigerung der Wirksamkeit des Adrenalins durch Hypophysin bewiesen. *Kahn* hat die Froschgefäßmethode neben der Blutdruckmethode zur Feststellung des Adrenalingehaltes der Nebennieren unter verschiedenen Bedingungen verwendet.

Adrenalinbestimmung am Darmpräparat.

Diese Methode geht von der sehr spezifischen Eigenschaft des Adrenalins aus, eine Hemmung des Darms hervorzurufen (*Boruttau*[10]).

[1]) *Lopez*, *Pflüger*s Archiv. Bd. **145**. S. 311 (1912).
[2]) *Kahn*, *Pflüger*s Archiv. Bd. **144**. S. 396 (1912).
[3]) *O'Connor*, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. **67**. S. 195 (1922).
[4]) *O'Connor*, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. **68**. S. 338 (1912).
[5]) *Asher*, Zeitschr. f. Biol. Bd. 58. S. 274 (1912).
[6]) *Trendelenburg* und *Bröcking*, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **103**. S. 168 (1911).
[7]) *Gottlieb*, Naturforscherversammlung. Karlsruhe 1911.
[8]) *Laewen*, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **51**. S. 415 (1904).
[9]) *Kepinow*, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **67**. S. 247 (1911).
[10]) *Boruttau*, *Pflüger*s Archiv. Bd. **78**. S. 113 (1899).

Eine rein hemmende Wirkung auf den überlebenden Darm ist, so viel man weiß, außer dem Adrenalin und seinen Verwandten keiner anderen Substanz eigen, die man im Blut vermuten könnte.[1])

Die Verwendung von überlebenden Darmstücken ist von *Cannon* und *de la Paz*[2]) vorgeschlagen worden und von *Hoskins* weiter ausgearbeitet worden. Die Methode ist die beste zum qualitativen Nachweis des Adrenalins, zu quantitativen Bestimmungen ist sie aber — wenigstens für adrenalinärmere Lösungen — kaum verwendbar. Die Ausführung ähnelt derjenigen am Gefäßstreifen und am Uterus. Ein Stück Darm von der Katze (*Cannon* und *de la Paz*[3]) oder vom Kaninchen (*Hoskins*[4]) wird in einem kleinen Gefäßchen in mit Sauerstoff gesättigter *Ringer*scher Lösung fixiert und schreibt seinen Tonus und seine Pendelbewegungen nach dem Verfahren von *Magnus* auf ein Kymographion auf. Die lang dauernde Hemmung, die Adrenalin an dem Präparate hervorruft, ist ein sicheres Kennzeichen für seine Gegenwart, wenn Temperaturveränderungen und dergl. ausgeschlossen werden können. Da das Serum als solches auf die glatten Muskeln des Darms die entgegengesetzte Wirkung entfaltet (Erregung, nicht Hemmung), so können andere Serumsubstanzen bei dieser Bestimmungsmethode niemals Adrenalin vortäuschen. Dagegen kann die erregende Wirkung der anderen Serumsubstanzen den wahren Adrenalinwert verbergen oder verringern (*O'Connor*[5]), ein Umstand, der wieder nur die quantitative, aber kaum die qualitative Bedeutung der Methode beeinträchtigt. Soll die Hemmung für Adrenalin beweisend sein, so muß sie lange andauern, denn auch das adrenalinfreie Serum kann am Kaninchendarm eine kurz dauernde Hemmung hervorrufen. Reine Adrenalinlösungen sollen am Kaninchendarm noch bei 1 : 400 Millionen Verdünnung einen Ausschlag geben (*Hoskins*[4]). *Cannon* und *de la Paz*[3]) haben mit dieser Methode auch im Karotisblut qualitativ Adrenalin nachgewiesen, und zwar an Katzen, die sich in psychischem Aufregungszustand befanden.

Von den verschiedenen Methoden der Adrenalinbestimmung im Blute, die wir besprochen haben, dürften heute praktisch nur mehr in Betracht kommen: die Bestimmung am Blutdruck, die am Froschgefäßpräparat und der Nachweis am Katzendarm. Wollen wir diese Methoden kurz charakterisieren, so ließe sich sagen: Die Blutdruckmethode ist zwar nicht sehr empfindlich, gestattet aber innerhalb der Grenzen ihrer Empfindlichkeit die rascheste und genaueste Bestimmung der Konzentrationsunterschiede. Die Froschgefäßmethode vereinigt

[1]) Es ist bemerkenswert, daß in dem Extrakt der afrikanischen Droge Uzara eine Substanz vorzukommen scheint, die nach Art des Adrenalins auch auf den Darm einwirkt (*Gürber*, Münchener med. Wochenschr., 1911 und *Loening*, Naturforscherversammlung. Karlsruhe 1911).

[2]) *Cannon* und *de la Paz*, Amer. Journal of Physiol. Bd. 28. S. 64 (1911).

[3]) *Cannon* und *de la Paz*, Amer. Journal of Physiol. Vol. 28. p. 64 (1911).

[4]) *Hoskins*, Journal of Pharm. and exp. Ther. Vol. 3. p. 93 (1911).

[5]) *O'Connor*, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 67. S. 207 (1912).

große Empfindlichkeit mit der Möglichkeit quantitativer Bestimmungen. Der Katzendarm ist bei der hohen Spezifität der Darmhemmung für Adrenalin für den qualitativen Nachweis am besten geeignet.

Ist das Adrenalin in relativ großen Mengen vorhanden, wie z. B. im Nebennierenvenenblut, so läßt sich die Bestimmung unserer Meinung nach am leichtesten und genauesten durch den Blutdruckversuch ausführen. Ist die Verdünnung des Adrenalins in einer Blutprobe aber zu groß, um am Blutdruck einen deutlichen Ausschlag zu geben, so wird man sich am besten der Froschgefäßmethode bedienen, welche noch bei der Verdünnung von 1 zu 30 Millionen eine sichere Bestimmung gestattet. Will man nur die Gegenwart von Adrenalin in einer Blutprobe qualitativ erweisen, so läßt sich dieser Nachweis am besten am ausgeschnittenen Katzendarm erbringen.

In wichtigeren Fällen sollte man sich aber niemals mit nur einer Methode begnügen. Auch empfiehlt es sich für entscheidende Fälle, sich die leichte Oxydierbarkeit des Adrenalins zur Sicherung des Resultates zunutze zu machen. Verschwindet die Adrenalinwirksamkeit einer Blutprobe am Blutdruck oder am Froschgefäßpräparat nach einigen Stunden der Durchleitung von Sauerstoff bei Körpertemperatur, so kann man wohl mit Sicherheit aussagen, daß die beobachtete Wirksamkeit wirklich von Adrenalin herrührte. Im Prinzip ähnlich, aber praktisch wohl nicht so brauchbar ist das von *Batelli*[1]) empfohlene Verfahren, die Proben im Sonnenlichte stehen zu lassen.

[1]) *Batelli*, Comptes rendus. p. 1179 (1902).

Methodik der Darmuntersuchung (Darmbewegung).

Von **A. Lohmann** (Marburg).

Einleitung.

Die Lage des Darmes in der Bauchhöhle, seine Länge, der komplizierte anatomische Bau und seine außerordentlich verwickelten Bewegungsformen machen die Untersuchung der Darmbewegungen an sich recht schwierig.

Dementsprechend sind auch die Methoden, die man zu diesen Untersuchungen angewandt hat, sehr verschieden und mannigfach. Eine Methode, die uns gestattete, auf einmal alle Einzelheiten der Bewegungen des gesamten Darmrohres zu untersuchen, besitzen wir nicht. So müssen wir die auf verschiedenen Wegen gefundenen einzelnen Resultate kombinieren, um einen tieferen Einblick in den Gesamtmechanismus des Darmes zu gewinnen.

In den meisten zur Untersuchung kommenden Fällen wird es sich aber nur um gewisse Teilfragen handeln, die sich leicht mit der einen oder anderen Methode beantworten lassen. Die in jedem Falle anzuwendende Untersuchungsmethode hängt natürlich im wesentlichen von der speziellen Fragestellung und häufig auch von den zur Verfügung stehenden Mitteln ab. Allgemeine Grundsätze in dieser Richtung aufzustellen, ist wohl nicht angebracht. Welche Untersuchungsmethode anzuwenden ist, wird man am besten von Fall zu Fall entscheiden, wenn man über die Art der Methoden und ihre Leistungsfähigkeit orientiert ist. Wir wollen daher sofort mit deren Besprechung beginnen.

1. Inspektion durch die Bauchwand hindurch.

Bei Patienten mit sehr dünnen und schlaffen Bauchdecken ist es manchmal möglich, die Bewegungen des Darmes deutlich zu sehen. *Rossbach* [1]) beschreibt z. B. einen Fall, bei dem bei stärkeren Darmbewegungen die Bauchdecken tief zwischen die Darmschlingen einsanken und so deren Konturen aufs genaueste wiedergaben. Es gelang sogar in diesem Falle, graphische Kurven aufzunehmen. Doch sind solche Fälle recht selten.

[1]) *Rossbach*, Beobachtungen über die Darmbewegung des Menschen. Deutsches Archiv für klinische Medizin. Bd. 46. S. 323 (1890).

Auch bei Tieren sind derartige Beobachtungen zu machen, wie *A. v. Haller* und *Pal* gezeigt haben. Es eignen sich dazu wegen der dünnen Bauchdecken am besten magere junge Kaninchen, die am Abdomen enthaart werden. Die vollständige Entfernung der Haare nimmt man zweckmäßig in der Weise vor, daß man auf die betreffenden Hautpartien das im Handel käufliche Calcium sulfuratum hydratum aufträgt, es etwa zwei bis drei Minuten in Berührung mit der Haut läßt und dann sorgfältig mit Wasser abwäscht, dabei werden die Haare vollständig mit entfernt.

Diese Art der Beobachtung hat den Vorteil, daß sie äußerst einfach ist und das Tier in keiner Weise irritiert.

Man kann noch einen Schritt weiter gehen und die Haut in der Mittellinie durchtrennen und dann von den Bauchdecken abpräparieren. Dadurch wird die Beobachtung der Darmbewegung bedeutend erleichtert, aber man gibt den Vorteil auf, das Tier ganz unbeeinflußt zu lassen. Das Abpräparieren der Haut geschieht am besten in Äthernarkose.

Bei Tieren mit dickeren Bauchwänden (z. B. Katzen, Hunden) kann man auch diese noch bis auf das Peritoneum zur Seite präparieren. Doch stellt das Verfahren einen recht erheblichen und wohl selten zu empfehlenden Eingriff dar.

2. Untersuchung mittelst des Röntgenverfahrens.

Ganz außerordentlich sind die Fortschritte, die die Untersuchung des Darmes mittelst der Röntgenstrahlen gemacht hat.[1]) Diese Art der Untersuchung hat wegen ihrer leichten Handhabung, der Ungefährlichkeit, wegen der völligen Erhaltung der natürlichen Bedingungen, unter denen der Darm steht, und wegen der guten Resultate, die sie liefert, immer mehr Freunde gewonnen. Sie eignet sich sowohl zur Untersuchung der Darmtätigkeit bei Menschen als auch bei Tieren.

Da der Darm an sich für Röntgenstrahlen genau so durchlässig ist wie die übrigen Weichteile, so müssen, um ihn sichtbar zu machen, künstliche Dichtigkeitsunterschiede geschaffen werden. Die zunächst angewandte Aufblähung mit Luft ist bald verlassen. Auch die Einführung von Sonden ist für die Untersuchung des Darmes wenig fruchtbar geblieben. (Vielleicht wird sich das von *Scheltema*[2]) als Permeation bezeichnete Verfahren von

[1]) An zusammenfassenden Arbeiten, in denen auch gute Literaturzusammenstellungen sich finden, seien angeführt: *Franz M. Groeder,* Atlas und Grundriß der Röntgendiagnostik in der inneren Medizin. Lehmanns Verlag, München 1909. — *H. Rieder,* Die physiologische Dickdarmbewegung beim Menschen. Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen. Bd. **18**. S. 85. Hamburg 1912. — *Cannon,* The mechanical factors of digestion. London, Arnold. 1911. — *R. Magnus,* Die experimentellen Grundlagen der Röntgenuntersuchung des Magendarmkanales. Verhandlungen des deutschen Kongresses für innere Medizin. 29. Kongreß. S. 42. Wiesbaden 1912. — *Gottwald Schwarz,* Zur Physiologie und Pathologie der menschlichen Dickdarmbewegungen. Münchener med. Wochenschr. 58. Jahrgang. S. 1489 (1911).

[2]) *Scheltema,* Die Permeation und die Röntgendiagnostik bei der Untersuchung des Magendarmkanals. IV. Internationaler Kongreß. Amsterdam 1908.

Nutzen erweisen. Es besteht darin, daß ein langer dünner Schlauch, der mit Wismut gefüllt ist, durch die Nase in den Verdauungstraktus eingeführt wird und so den ganzen Darm sichtbar macht.) Erst nachdem man dazu überging, mit Metallsalzen vermischte Nahrung zu verabfolgen, kam man zu brauchbaren Resultaten.

Welches Metallsalz man nimmt, scheint ziemlich gleichgültig zu sein. Gewarnt wird vor dem ursprünglich angewandten Bismutum subnitricum, da die Gefahr einer Nitritvergiftung besteht. Sehr viel benutzt wird das Bismutum carbonicum. Doch gibt *Hertz*[1]) an, daß es durch Neutralisation der Salzsäure des Magens diesen lähme und so indirekt auch den Darm beeinflussen könne. Dementsprechend empfiehlt er das Wismutoxychlorid. Auch das Hydroxyd des Wismut, ferner das Zirkonoxyd wird angewandt. Neuerdings benutzt man sehr viel mit gutem Erfolge das Baryumsulfat, das auch den Vorzug der Billigkeit hat. Eine Wirkung von wesentlicher Bedeutung auf den Ablauf der Darmbewegungen scheint allen genannten Salzen nicht zuzukommen. Erwähnt sei, daß *Best* und *Cohnheim*[2]) angeben, daß Wismut eine verzögernde Wirkung auf den Durchgang des Inhaltes durch den Dünndarm ausübt, während das Baryumsulfat diese Wirkung nicht habe. Weiterhin berichtet *Magnus*[3]), daß bei bestimmten Arten von Durchfällen das Wismut eine stopfende Wirkung habe.

Von größerer Wichtigkeit ist die Art der Verabfolgung des betreffenden Metallsalzes. Mit Recht weist *Magnus*[3]) darauf hin, daß man möglichst die Garantie haben müsse, daß Nahrung und Metallsalz dauernd gemischt bleiben; das wird am besten erreicht, wenn man einen Kohlehydratbrei anwendet, während Fleisch und Fett sich weniger gut eignen. Für den Menschen verwendet man zweckmäßig 350 *g* Mehl- oder Mondaminbrei, unter den man ca. 50—150 *g* des Metallsalzes, das vorher mit etwas Wasser und Himbeersirup verrührt ist, innig mischt. Katzen gibt man etwa 20—25 *g* Grieß- oder Kartoffelbrei vermischt mit 4—5 *g* Metallsalz.

Während *Rieder*[4]) die Probemahlzeit nüchtern gibt, empfiehlt *Holzknecht*[5]), vor der Breimahlzeit eine dünnflüssige sedimentierende Vorfüllung zu verwenden.

Die Verabfolgung einer mit Metallsalz versetzten Mahlzeit gestattet nun mit Hilfe der Röntgenstrahlen den Durchgang der Mahlzeit durch

[1]) *Arthur Hertz,* Untersuchungen zur Röntgenstrahlendiagnose der Verdauungskrankheiten. Verhandlungen des deutschen Kongresses für innere Medizin. XXIX. Kongreß. Wiesbaden 1912. S. 96.

[2]) *Franz Best* und *Otto Cohnheim,* Zur Röntgenuntersuchung des Verdauungskanals. Münchener med. Wochenschr. S. 2732 (1911).

[3]) *R. Magnus,* Die experimentellen Grundlagen der Röntgenuntersuchung des Magen-Darmkanales. Verhandlungen des deutschen Kongresses für innere Medizin. XXIX. Kongreß. Wiesbaden 1912. S. 42.

[4]) *Rieder,* Das Röntgenverfahren im Dienste der Pathologie und Therapie des Magen-Darmkanals. Verhandlungen des deutschen Kongresses für innere Medizin. XXIX. Kongreß. Wiesbaden 1912. S. 17.

[5]) *Holzknecht,* Praktische Winke aus dem Gesamtgebiete der Magen-Darm-Radiologie. Ibidem S. 90.

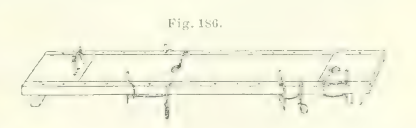
den Darm und dessen verarbeitende Tätigkeit sehr genau zu verfolgen. Es gelingt aber nicht auf diese Weise, längere Strecken des Darmes etwa wie beim Magen in toto sichtbar zu machen, da der Darminhalt zu ungleichmäßig verteilt ist. Um derartige „Ausgüsse“ herzustellen, kann man beim Dickdarm wismuthaltige Einläufe machen. Für das Duodenum hat man größere Mengen wässriger Wismutaufschwemmungen angewandt.

Diese „Ausgüsse“, die besonders gern am Dickdarm angewandt wurden, dehnen denselben über seine normale Weite, so daß ihre Anwendung nur angebracht ist, wenn man sich über bestimmte morphologische und topographische Verhältnisse orientieren will. Im allgemeinen ist, besonders bei funktionellen Untersuchungen, der Mahlzeit vor dem Einlauf der Vorzug zu geben.

Als Versuchstiere sind am meisten nach dem Vorgange von *Cannon*[1]) Katzen angewandt. Man läßt sie am Tage vor dem Versuche hungern und sorgt für gründliche Entleerung des Darmes durch Verabfolgung von 4—6 Teelöffeln Rizinusöl. Für die Untersuchung selbst ist es notwendig, daß die Tiere nicht aufgeregt sind und sich ganz ruhig verhalten. Nach *Cannon* eignen sich infolgedessen für die Versuche nur weibliche Katzen, die so weit zu zähmen sind, daß sie sich die nötige Fesselung ohne Widerstand gefallen lassen. Auch die bei der Durchleuchtung entstehenden Geräusche wirken nicht störend, sondern eher einschläfernd.

Der von *Cannon* benutzte Tierhalter ist in Fig. 186 wiedergegeben. Er besteht aus einem Rahmen, der mit schwarzem Tuch überzogen ist. Das Tuch ist nicht scharf angespannt, so daß es eine Mulde bildet, in der die Katze bequem liegt. Die Längsseiten des Rahmens sind 80 *cm* lang und 2·5 *cm* breit. Die Querhölzer sind 16 *cm* lang und 12·5 *cm* breit. An den Längsleisten befinden sich Löcher zum Durchstecken für die Schlaufen, die zum Fesseln der Extremitäten dienen. Durch Holzzapfen werden sie festgeklemmt. Der Kopf der Katze wird durch zwei Zapfen fixiert, deren Entferung nach der Dicke des Halses eingestellt wird. Oben sind die Zapfen durch einen Riemen verbunden.

Fig. 186.



Zur Beleuchtung verwendet *Magnus*[2]) eine von den Veifawerken (Aschaffenburg) ausgeführte Einrichtung. Die horizontal gelagerte Röhre mit Wasserkühlung befindet sich in einem mit Blei oder Röntgenschutzstoff ausgeschlagenen Kasten, dessen Deckel eine Irisblende aus Blei trägt. Auf diesen Deckel wird der Tierhalter gestellt.

---

[1]) *Cannon*, The movements of the stomach studied by means of the Röntgen rays. American Journal of physiology. Vol. 1. p. 359 (1898) und The movements of the intestines studied by means of the Röntgen rays. Ibidem Vol. 6. p. 251 (1902).

[2]) *Magnus*, Die Bewegungen des Verdauungsrohres. Handbuch der physiologischen Methodik. Bd. 2. 2. Abteilung. S. 99, dort S. 116.

Die Untersuchung des Menschen wird meist in aufrechter Stellung an den bekannten Gestellen vorgenommen. Zweckgemäß ist es, sich die Stelle des Nabels etwa durch eine mit Heftpflaster aufgeklebte Münze zu markieren.

Um die durch eine Narkose eventuell bedingten Störungen der Darmtätigkeit zu vermeiden, um andrerseits aber auch psychische Einflüsse sicher auszuschalten, hat sich *Klee*[1]) auf Veranlassung von *Magnus* des *Sherrington*schen Dekapitationsverfahrens bedient. Die Katzen werden tracheotomiert und die Lungen mit künstlicher Atmung ventiliert. Die Halsgefäße werden unterbunden und der Kopf im Atlanto-Occipitalgelenk abgetrennt. Die Haut über dem Stumpf wird vernäht. Bei genügender Erwärmung konnten die Tiere bis zu 28 Stunden in tadellosem Zustande erhalten werden. Etwa 1 bis 2 Stunden nach Beendigung der Operation und Aussetzen der Narkose wurde mit dem Versuche begonnen.

Auch die intrakranielle Abtrennung des Gehirns dürfte sich für diese Versuche empfehlen.

Welches Verfahren man wählt, um sich das Röntgenbild sichtbar zu machen, hängt im wesentlichen von dem Zweck der Untersuchung ab.

Am einfachsten ist die Beobachtung mit dem Leuchtschirm, man wird für viele Zwecke vollkommen damit auskommen. Man tut gut, sich die Ergebnisse der Untersuchung von Zeit zu Zeit durch Pausen zu fixieren.

In vielen Fällen ist es angebracht, photographische Aufnahmen zu machen. Abgesehen davon, daß sie korrekter als die Pausen sind, haben sie noch den Vorteil, daß immer noch mehr Details als auf dem Schirme zu sehen sind. Besonders bei dicken Bauchdecken wird man sie nicht umgehen können. Die Aufnahmen werden durch Momentbelichtung hergestellt.

Um sich ein getreues Bild über den Bewegungsablauf zu verschaffen, sind kinematographische Aufnahmen das idealste Verfahren. Es sind auf diese Weise schon sehr brauchbare Resultate besonders am Magen erzielt.[2]).

Doch ist das Verfahren noch sehr neu und in bezug auf den Darm wenig erprobt.

Es ist z. Z. noch ein sehr umständliches und teures Verfahren, das nur für ganz bestimmte Untersuchungen angebracht erscheint.

Immerhin wird man zugeben müssen, daß die Röntgenkinematographie des Darmes wohl eine große Zukunft haben wird.

Da man aus äußeren Gründen wohl meistens von der Kinematographie absehen muß, hat man Ersatz für die Methode zu schaffen gesucht.

---

[1]) *Philipp Klee*, Der Einfluß der Vagusreizung auf die Magendarmbewegungen und auf die Weiterbeförderung des Magendarminhaltes. Röntgenversuche an der Rückenmarkskatze. Verhandlungen des deutschen Kongresses für innere Medizin. 29. Kongreß. Wiesbaden 1912. S. 171.

[2]) *Rieder*, *Kästle* und *Rosenthal*, Über Röntgenkinematographie (Bioröntgenographie) innerer Organe des Menschen. Zeitschr. f. Röntgenkunde. Bd. 12. Heft 1; *Fränkel*, Diagnostische und operationsprognostische Bedeutung der Röntgenkinographie beim Magenkarzinom; ferner: *Kästle*, Die Dünndarmbewegung des Menschen während der Verdauung. Sitzungsbericht des deutschen Kongresses für innere Medizin. 29. Kongreß. Wiesbaden 1912. S. 318. — *Franz M. Groeder*, Die Bewegungsvorgänge am normalen und pathologischen Magen im Lichte der Röntgenstrahlen. Ebenda, S. 91.

Es sind in erster Linie zu nennen die Serienaufnahmen, die sich nach *Rieder*[1]) besonders für die Beobachtung der Bewegungsvorgänge im Dickdarm eignen. Diese spielen sich zum großen Teil so langsam ab, daß man bequem den notwendigen Plattenwechsel vornehmen kann. Die Dünndarmbewegungen verlaufen dagegen so schnell, daß man ihren Ablauf auf diese Weise nicht verfolgen kann. Es ist nun vor kurzem von *Levy-Dorn* und *Silberberg*[2]) vorgeschlagen, an Stelle der kinematographischen Aufnahmen „Polygramme" herzustellen. Die Methode besteht darin, daß man von dem sich bewegenden Organ in bestimmten Intervallen Momentaufnahmen auf ein und dieselbe Platte entwirft. Dabei sind die sich zum Teil überdeckenden Bilder doch noch deutlich einzeln zu erkennen. Das Verfahren, das zunächst für die Untersuchung des Magens angegeben ist, wird sich wohl auch auf den Darm, insbesondere auch auf den Dünndarm anwenden lassen.

Schließlich möge noch eine Art der photographischen Registrierung erwähnt werden, das ist die von *Hildebrand* mit so gutem Erfolg in die Röntgeneologie eingeführte Herstellung von stereoskopischen Aufnahmen. Speziell vom Darm fehlen bisher Erfahrungen. Es ist aber anzunehmen, daß gerade hier bei den häufig verwickelten Bildern die Stereoskopie besonders gute Resultate zeitigen wird.

Was man mit den Röntgenmethoden beobachten kann, ist recht vielseitig. Sie geben uns Aufschluß über die Verweildauer der Speisen in den einzelnen Darmabschnitten, über die Art der Fortbewegung von einem Darmabschnitt zum anderen und vor allen Dingen über Form und Bewegungstypus der einzelnen Darmabschnitte.

3. Versuche mit Hilfe von Darmfisteln.

Mit Hilfe von Darmfisteln lassen sich manche Fragen der Darmbewegungen untersuchen.

Die Technik der Anlegung von Darmfisteln kann hier nicht besprochen werden, es möge auf die ausführlichen Zusammenstellungen von *Pawlow*[3]) hingewiesen werden.

Zunächst kann man an irgend einem Abschnitte des Darmes eine Fistel anlegen und beobachten, wann die aufgenommene Nahrung aus ihr entleert wird. Man kann so die verschiedene Passierdauer, die verschiedene Nahrungsmittel haben, bestimmen. Man kann auch bei solchen Tieren bei denen je eine Fistel in verschiedener Höhe des Darmes angelegt ist,

---

[1]) l. c. (Verhandlungen des deutschen Kongresses für innere Medizin) S. 34.

[2]) *Levy-Dorn* und *Silberberg*, Berliner klinische Wochenschrift. 1912. S. 549 und: Polygramme zur Magendiagnostik. Verhandlungen des deutschen Kongresses für innere Medizin. 29. Kongreß. Wiesbaden 1912. S. 294.

[3]) *J. P. Pawlow*, Die physiologische Chirurgie des Verdauungskanals. Ergebnisse der Physiologie. 1. Jahrg. I. Abt. S. 246. Wiesbaden 1902. — Derselbe, Die operative Methodik des Studiums der Verdauungsdrüsen. Handbuch der physiologischen Methodik. Bd. 2. 2. Abt. S. 150. Leipzig 1908.

die Zeit bestimmen, die vergeht, von der Nahrungsaufnahme bis zur Entleerung aus der Fistel und durch Subtraktion dieser Werte sich ein Bild verschaffen über die Zeit, die die Speisen in dem betreffenden Darmabschnitte verweilen.

Um sich über die Zeit zu unterrichten, welche Speisen brauchen, um durch einen bestimmten Darmabschnitt zu passieren, ist es einfacher, eine sogenannte Vellafistel anzulegen. Es wird dazu ein Stück Darm von beliebiger Länge ohne Verletzung des Mesenteriums ausgeschnitten und seine beiden Schnittenden in die Bauchwunde eingenäht. Die beiden Schnittenden, die am zurückgebliebenen Hauptdarm entstehen, werden durch Naht vereinigt. An einem so isolierten Darmstück kann man zentral Nahrungsstoffe einführen und die Zeit bestimmen, die vergeht, bis sie peripher ausgestoßen werden.

Von verschiedenen Seiten sind die Fistelmethoden mit Anwendung beweglicher Sonden kombiniert.

Brandl und *Tappeiner*[1]) legen bei einem Hunde eine Magenfistel an und schieben durch sie einen mit Wasser gefüllten Kautschukballon in das Duodenum. An dem Ballon befindet sich ein langer Gummischlauch mit Zentimetereinteilung. Der Ballon löst peristaltische Bewegungen aus und wird dadurch analwärts bewegt. Die Intensität der Bewegung wird entweder gemessen an der Wegstrecke, die der Ballon in der Zeiteinheit vorwärts rückt, oder durch die Größe eines Gewichtes, das am freien Ende des Gummischlauches angebracht wird und so groß gemacht werden muß, daß es gerade nicht mehr durch die Peristaltik fortbewegt wird.

Auch an Hunden mit Vellafisteln kann man bewegliche Sonden anwenden.[2]) In das orale Ende der Fistel werden zylindrische Silber- oder Korkstücke eingeführt, an denen ein Faden mit Zentimeterteilung sich befindet. Die Methode eignet sich speziell zur Untersuchung von Arzneimittelwirkungen auf die Darmtätigkeit.

4. Kochsalzbad.

Die bisher angeführten Methoden der Darmuntersuchung haben den Vorteil, daß sie das Tier unter annähernd normalen Bedingungen erhalten. Insbesondere sind Narkose und Eröffnung der Bauchhöhle, die nicht ohne Einfluß auf die Darmtätigkeit sind, während der Versuche vermieden.

Bei den nunmehr zu schildernden Methoden lassen sich diese Fehlerquellen nicht völlig umgehen. Die Methoden sind aber in anderer Beziehung den bisher besprochenen zum Teil weit überlegen.

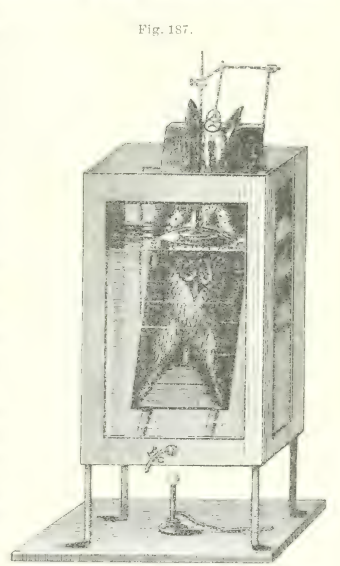
---

[1]) *J. Brandl* und *H. Tappeiner*, Versuche über Peristaltik nach Abführmitteln. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Bd. **26**. S. 177 (1890). — Siehe auch: *Hess*, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **40**. S. 93.

[2]) *John E. Esslemont*, Beiträge zur pharmakologischen Wirkung von Abführmitteln der Aloederivatgruppe. Arch. f. experim. Path. u. Pharm. Bd. **43**. S. 274 (1900). — Siehe auch: *Cash*, Contribution to the Study of Intestinal Rest and Movement. Proc. Royal Society. Nr. 247 (1886).

Ein sehr häufig angewandtes Verfahren ist die Beobachtung des Darmes im Kochsalzbade. Es wurde zuerst von *van Braam Houckgeest*[1]) beschrieben. Er verwendet einen 60 *l* fassenden Blechkasten und füllt ihn mit 40 *l* 0,6⁰/₀iger auf 38⁰ erwärmter NaCl-Lösung. Das Kaninchen wird auf eine schwere Zinkplatte gebunden und ihm eine mit einem Schlauch versehene Trachealkanüle eingelegt. Es wird dann Haut und Faszie vom Processus xiphoideus bis zur Symphyse durchtrennt. Nachdem jede Blutung sorgfältig gestillt, wird das Kaninchen in das Kochsalzbad versenkt und die Bauchhöhle unter Führung einer Hohlsonde in der Mittellinie eröffnet. Auf diese Weise vermeidet man jede Berührung des Darmes mit der Luft und man kann sehr gut die Bewegungen des Darmes beobachten. Zur Reizung der Nerven am Halse wird der Kopf und Hals aus dem Bade emporgehoben.

Fig. 187.



Die Methode wurde nun noch in der Folgezeit verbessert. *Jakobj*[2]) verwendet einen Blechkasten (s. Fig. 187) von 80 *cm* Höhe, 40 *cm* Breite und Tiefe. An drei Seiten sind möglichst große Spiegelscheiben angebracht. Die Versuchstiere werden mit Äther narkotisiert auf einen *Czermak*schen Halter gebunden und tracheotomiert. Dann werden die Bauchdecken bis auf das Peritoneum durchtrennt und nach sorgfältiger Blutstillung das Tier versenkt.

Nach Eröffnung der Bauchhöhle wird der Darm durch eine konkave Glasscheibe, die an einem Stiel befestigt ist, unter Wasser gehalten. Es wird dann durch einen am Boden des Kastens befindlichen Tubus soviel Kochsalzlösung abgelassen, bis das Niveau der Flüssigkeit etwas höher als die Kuppe des Zwerchfelles sich befindet. Auf diese Weise lassen sich die Tiere länger am Leben erhalten und die Beobachtung wird bedeutend erleichtert.

Magnus[3]) versenkt das ungefesselte Tier in eine Wanne von 45 × 17 × 17 *cm*, diese ist mit 9 *l* Kochsalzlösung gefüllt. Ein paar Schieber an der Schwanzwurzel verhindern den Auftrieb des Tieres. Als Kopfhalter

[1]) *van Braam Houckgeest*, Untersuchungen über Peristaltik des Magens und Darmkanals. *Pflüger*s Arch. Bd. **6**. S. 266 (1872).

[2]) *Carl Jakobj*, Pharmakologische Untersuchung über das Colchicumgift. Arch. f. experim. Path. u. Pharm. Bd. **27**. S. 119 (1890).

[3]) *Magnus*, Die Bewegungen des Verdauungsrohres. Handbuch der physiologischen Methodik. Bd. **2**. II. Abteilung. S. 99. Leipzig 1908.

dient ein Becherglas, das etwa so hoch wie der Flüssigkeitsspiegel ist, in dessen Öffnung wird der Hinterkopf gelegt. Außerdem wird künstliche Atmung angewandt. Besonders bemerkenswert ist, daß die Temperatur des Kochsalzbades nur bis auf 35° gebracht wird, um eine sonst leicht eintretende Überhitzung des Tieres zu vermeiden. Daher empfiehlt es sich auch, von Zeit zu Zeit die Körpertemperatur im Rektum zu kontrollieren.

Ich verwende einen *Meyer*schen Käfig von der Größe 40×40×30, der unten durch einen Stopfen verschlossen wird. Die Temperatur des Kochsalzbades wird durch eine am Boden des Gefäßes befindliche Glühlampe konstant gehalten.

Cyon[1]) wendet das Kochsalzbad noch mehr lokal an als *Jakobj*, er beschreibt sein Verfahren wie folgt:

„Nachdem die Bauchwunde in der Linea alba vom Proc. xiphoideus bis dicht zur Symphysis pubis aufgeschnitten worden, zieht man durch die beiden Wundränder je zwei Fäden durch und hebt sie mittelst derselben empor, dasselbe macht man mit den beiden Wundwinkeln. Auf diese Weise kommen die Därme in eine Art Mulde zu liegen, und man kann sie beliebig mit einer ganz flachen Schicht der erwärmten Lösung bedecken. Es wäre auch eine Leichtigkeit, um das fortwährende Wechseln der sich abkühlenden Flüssigkeit zu ersparen, einen kontinuierlichen Strom derselben zu erzeugen, der vom oberen zum unteren Wundwinkel ginge."

Um zu verhindern, daß bei diesem Verfahren der Darm zunächst mit Luft in Berührung kommt, kann man, wie ich weiter unten bei der Schilderung einer anderen Methode zeigen werde[2]), vor der Eröffnung der Bauchhöhle so viel NaCl-Lösung einspritzen, daß der Darm bedeckt ist.

5. Feuchte Kammer.

Da die Anwendung des Kochsalzbades bei manchen Versuchen (z. B. Freilegung und Reizung von Nerven) auf Schwierigkeiten stößt, so verwendet *Pohl*[3]) eine auf 39° erwärmte feuchte Kammer, in die das Versuchstier hineingebracht wird. Die Trachealkanüle wird durch einen Schlauch mit der Außenluft in Verbindung gebracht, dadurch soll durch gesteigerte Atmung die Änderung der Wasser- und Wärmeabgabe ausgeglichen werden. Die feuchte Kammer hat die Größe von 54×34×21 *cm* und besitzt verschiedene Fenster zum Einführen der Hände.

6. Abdominales Fenster zum direkten Beobachten des Darmes.

Die aufgeführten Methoden, Kochsalzbad und feuchte Kammer, sind nicht gleichgültig für das normale Arbeiten des Darmes. Bei beiden Methoden befindet sich der Darm nicht in der natürlichen Umgebung. Im

[1]) *E. Cyon,* Methodik der physiologischen Experimente und Vivisektionen. S. 308. Gießen und Petersburg 1876.

[2]) Siehe S. 614.

[3]) *Julius Pohl,* Über Darmbewegungen und ihre Beeinflussung durch Gifte. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Bd. 34. S. 87 (1894).

Kochsalzbade wird eine sehr starke Wasserresorption stattfinden und die Luft der feuchten Kammer schafft auch unnatürliche Bedingungen, die sich in sehr verstärkter Darmtätigkeit äußern. Außerdem sind bei beiden Verfahren größere Operationen (z. B. Freilegung und Reizung der Nerven in der Brusthöhle) mit den größten Schwierigkeiten verbunden.

Ich habe deshalb ein Verfahren ausgearbeitet, das diese Fehler tunlichst vermeidet. Es besteht darin, daß ein Fenster[1]), wie es die Fig. 188 zeigt, an Stelle der vorderen Bauchwand eingesetzt wird.

Das Fenster hat eine ovale Form, ist 9 *cm* breit und 13 *cm* lang. Es besteht aus drei je 1 *cm* breiten ovalen Messingringen. Zwischen zwei von ihnen ist eine dünne Glimmerplatte gelegt und diese durch die auf der Figur sichtbaren acht Stahlschrauben luftdicht zwischen die Ringe festgepreßt.

Fig. 188.



Die Schrauben ragen nun noch etwa 2 *cm* aus dem oberen Ring hervor und sind nach oben scharf zugespitzt. Der dritte ovale Messingring, der in der Figur von dem übrigen Rahmen abgehoben ist, hat acht den Schrauben entsprechende Löcher, so daß er bequem auf den übrigen Rahmen aufgesetzt werden kann. Das ganze Fenster ist außerdem bauchig um die Längsachse gebogen, so daß es sich der Wölbung der Bauchwand anpaßt.

Das Einsetzen des Fensters geschieht nun in folgender Weise. Zunächst wird das Versuchstier narkotisiert. Ich habe bei Kaninchen mit sehr gutem Erfolge Chloralose angewandt. (Über die Art der Verabfolgung siehe unter Narkose.[2]) Bei Katzen wurde meist Äther gegeben. Darauf wird die Bauchhaut durch einen Schnitt etwa 3 *cm* links von der Mittellinie und parallel zu ihr durchtrennt und nach beiden Seiten auf eine größere Strecke von der Muskulatur abpräpariert. In der Mitte der jetzt freiliegenden Bauchwand (also etwas links der Mittellinie) hebt man sie mit einer chirurgischen Pinzette empor und eröffnet die Bauchhöhle; man faßt dann sogleich rechts und links die Bauchwand und Peritoneum mit Péans. Den Schnitt verlängert man dann nach oben und unten bis auf etwa 10 *cm* Länge. Dabei legt man immer Péans an und hält durch sie die Bauchwände nach oben. Durch den entstandenen Schlitz führt man nun das Fenster (zunächst ohne den dritten Ring) ein. Dann zieht man an den Péans die Bauchwand rechts und links über das Fenster; durch einen leichten Druck bohren sich die Schrauben durch die Muskulatur. Die Péans werden entfernt und der dritte ovale Ring wird aufgesetzt und mit Schraubenmuttern fest auf den Rahmen gepreßt. (In der Figur sind zwei von den Muttern lose aufgesetzt.) Der Teil der Bauchmuskulatur, der innen in dem

[1]) Das Fenster hat der Mechaniker des hiesigen Institutes, Herr *M. Rinck*, nach meinen Angaben angefertigt.

[2]) S. S. 625.

Rahmen des Fensters sichtbar ist, wird abgetragen. Durch den dritten Ring sind alle zur Wunde führenden Bauchgefäße zugequetscht, so daß keine Blutung eintritt. Sollten unter dem Glimmerfenster noch einige Luftblasen vorhanden sein, was sich nach einiger Übung fast völlig vermeiden läßt, so sticht man unterhalb des Rahmens vorsichtig eine Rekordspritze mit langer Nadel ein und führt die Spitze an die Stelle der Luftblasen, die sich dann leicht aufsaugen lassen.

Will man die Versuche über längere Zeit ausdehnen, so ist es ratsam, nicht nur das Tier mit Flanelltüchern zuzudecken, sondern auch unter den Rücken, auf den es aufgebunden ist, mehrere Tücher zu bringen, um die Abkühlung möglichst zu verhindern. Bei Kaninchen setzt man am besten etwas linkseitig das Fenster ein, weil sonst durch den Dickdarm fast der ganze Dünndarm verdeckt wird.

Während des Einsetzens des Fensters kommt vorübergehend der Darm mit der Luft in Berührung. Obwohl ich keinen störenden Einfluß davon gesehen habe, habe ich doch auch diese Berührung in einigen Versuchen vermieden. Unmittelbar vor Eröffnung der Bauchhöhle, nachdem man die Bauchwand emporgehoben hat, spritzt man von oben durch die Bauchwand in die Bauchhöhle mit einer großen Rekordspritze so viel 0·9%ige Na Cl-Lösung, daß bei Eröffnung der Bauchwand der Darm mit Flüssigkeit bedeckt ist. Die Höhe des Flüssigkeitsspiegels kann man durch die Bauchwand hindurchschimmern sehen. Beim Einsetzen des Fensters fließt dann seitlich die größte Menge der Flüssigkeit wieder ab.

Die beschriebene Methode gestattet äußerst bequem die dauernde Beobachtung des Darmes ohne Schädigung weder des Darmes noch des übrigen Tieres. Sie erlaubt auch in der bequemsten Weise alle möglichen Manipulationen am Versuchstiere.

7. Registrierung der Darmbewegung durch kompressible Hohlkörper, die in das Darmlumen eingeführt werden.

Eine der am häufigsten geübten Untersuchungsmethoden besteht darin, daß man einen kompressiblen, auf ein Rohr aufgebundenen Ballon in das Darmlumen einführt und die durch die Darmkontraktionen bedingten Veränderungen in der Weite des Ballons auf eine Schreibvorrichtung überträgt.

Einen nach diesem Prinzip gebauten Apparat zeigt der *Engelmann*sche[1]) Enterograph auf Fig. 189. Er besteht aus einem kleinen Zylinder *c*, dessen Wand eine dünne Gummimembran *m* bildet, und dessen Boden aus einer Messingscheibe *p* besteht. Die Membran ist oben über eine Glasröhre *g* geschoben, auf deren anderes Ende ein dickwandiger Gummischlauch *k* gezogen wird. Der Apparat wird durch ein Loch in der Darmwand eingeführt, indem man zur besseren Führung eine bis auf den Boden von *c*

[1]) *Th. W. Engelmann*, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. *Pflüger*s Archiv. Bd. 4. S. 33 (1871).

reichende Metallsonde von g^1 aus einschiebt. Liegt der Apparat an der gewünschten Stelle des Darmrohres, so wird die Sonde herausgezogen und durch g^1 eine Verbindung zu einer registrierenden Vorrichtung (*Mareys* Tambour, Piston recorder etc.) hergestellt. Es lassen sich leicht mehrere derartige Enterographen gleichzeitig in verschiedener Höhe des Darmes anbringen.

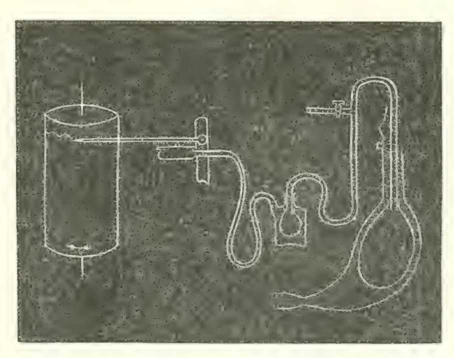
Die Fig. 189 gibt den für Kaninchen angewandten Enterographen in natürlicher Größe wieder.

Bayliss und *Starling*[1]) verwenden eine ähnliche Vorrichtung, sie binden auf dem Rohre, das die Gummikapsel trägt, den Darm fest. Die



Fig. 189. Fig. 190.





Kapsel wird mit Luft unter einem Drucke von 10 *cm* Wasser gefüllt, und dann wird die Verbindung zu einem Wassermanometer hergestellt, das einen Piston recorder trägt. *Bayliss* und *Starling* weisen nach, daß der Ballon an sich durch seine Lagerung im Darm eine Reizwirkung ausübt, die sich besonders in einer Hemmung auf die unterhalb liegenden Darmabschnitte bemerkbar macht. Die Wirkung ist besonders stark bei Hunden ausgeprägt, bei Katzen dagegen sehr viel weniger.

Morat[2]) schaltet, wie die Fig. 190 zeigt, dem im Darme liegenden Ballon einen zweiten zum Auffangen des Druckes entgegen. Dieser zweite ist in eine tubulierte Flasche luftdicht eingeschlossen. Von dem Tubus geht eine Leitung zu einem registrierenden Tambour.

Magnus[3]) bindet die zu den Versuchen angewandten Gummiballons, auf Glas- oder Metallröhren auf, die außer der endständigen noch mehrere

[1]) *W. M. Bayliss* and *E. N. Starling*, The movements and innervation of the small intestine. Journal of Physiology. Vol. **24**. p. 99 (1899); ferner Vol. **26**. p. 125 (1900).

[2]) *Morat*, Innervation de l'estomac et de l'intestin. Archives de physiologie normale et pathologique. T. **25**. p. 142 (1893).

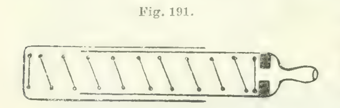
[3]) *Magnus*, Die Bewegungen des Verdauungsrohres. l. c. S. 120.

seitliche Öffnungen haben, um einen Verschluß der Öffnung durch den Darm sicher zu vermeiden. Er empfiehlt ebenfalls, vor die Registriervorrichtung ein Wassermanometer vorzuschalten.

Die geschilderten Ballonmethoden geben im wesentlichen ein Bild von der Kontraktion der Ringmuskulatur.

Um in analoger Weise auch die Wirkung der Längsmuskulatur zur Verzeichnung zu bringen, hat *New*[1]) einen Apparat angegeben, der in Fig. 191 abgebildet ist. Er besteht aus zwei Glasgefäßen, die ineinander gleiten. Das äußere ist durch einen flachen Boden geschlossen. Das nach außen ragende Ende des inneren Glastubus ist in einen Hals ausgezogen, auf den ein Gummischlauch gezogen werden kann, der zu einer registrierenden Vorrichtung führt (z. T. Tambour). In dem durch die beiden Glasgefäße gebildeten gemeinsamen Hohlraume ist eine Spiralfeder angebracht, die dieselben auseinanderdrückt. Die Schleifstelle wird durch Öl gedichtet. Der Apparat wird durch eine Öffnung des Darmrohres in dasselbe hineingesteckt und gibt nun die Bewegungen der Längsmuskulatur wieder.

Fig. 191.

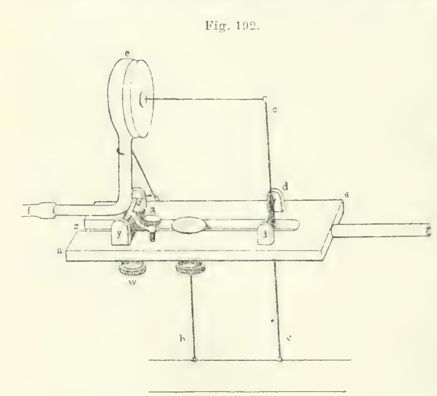


8. Methoden, um von der Oberfläche des Darmes dessen Bewegungen zu registrieren.

Bayliss und *Starling*[2]) geben einen Apparat an, den sie auch als Enterographen bezeichnen, der sehr gut geeignet ist, die Bewegung der Darmmuskulatur von der Außenseite des Darmes aus zu verzeichnen. Die Fig. 192 zeigt die Anordnung im einzelnen.

In dem Schlitz *z* der Messingplatte *a a* sind zwei Stahlnadeln *b* und *c* befestigt. *b* ist fixiert, kann aber näher oder weiter von *c* angeschraubt werden. *c* ist durch den Schlitz verlängert und um die Achse *d d* drehbar. Das obere Ende von *c* ist durch einen Faden mit der Membran des Tambours *e* in Verbindung. Die Bewegungen der Membran können durch *f* auf einen zweiten Tambour oder Piston recorder übertragen

Fig. 192.



[1]) *J. S. New,* Apparatus to shew longitudinal movements of the intestine. Journal of Physiology. Vol. **24**. p. XXVI (1899).

[2]) *Bayliss* and *Starling,* l. c. Vol. **24**. p. 101.

werden. *b* und *c* sind an ihren unteren Enden durchbohrt, es wird mit einem Faden hier die oberflächlich durchstochene Darmwand angebunden.

Der Apparat kann in der Längsrichtung des Darmes, wie in der Figur, angeschaltet werden, er verzeichnet dann die Kontraktionen der Längsmuskulatur. Er kann aber auch quer zum Darm zur Registrierung der Ringmuskelbewegungen angelegt werden. Mit zwei derartigen Apparaten können am selben Darmstück gleichzeitig Längs- und Ringmuskelbewegungen registriert werden.

Der beschriebene Enterograph eignet sich nur für die Untersuchung des Hundedarmes, der Kaninchendarm ist nach *Bayliss* und *Starling*[1]) zu empfindlich.

Steht der Enterograph nicht zur Verfügung, so kann man sich nach demselben Prinzipe eine Vorrichtung (*Magnus*[2]) improvisieren. Man befestigt durch eine feine Ligatur einen Punkt der Serosa an einem fixierten Glasstabe. An einem zweiten Punkt der Serosa befestigt man einen Faden, der zu einem leichtbeschwerten Schreibhebel führt.

Dieser Methode nahe steht die von *Courtade* und *Guyon*.[3]) Sie ziehen durch einen in der Linea alba angelegten Schlitz eine Dünndarmschlinge hervor. Es wird dann ein 8—10 *cm* langes Darmstück durch je zwei nahe beieinander liegende Umbindungen isoliert. Die Umbindungen des Darmes werden so angelegt, daß das zuführende Mesenterialgefäß in der Mitte liegt. Zwischen den doppelten Umbindungen wird jederseits der Darm und ein Teil des Mesenteriums durchschnitten. Die isolierte Schlinge, die noch in Zusammenhang mit ihrem Mesenterium ist, wird in eine Schale mit warmer Na Cl-Lösung gebracht; das eine Ende des isolierten Darmstückes wird fixiert; das andere mit Hebel und Registriervorrichtung verbunden. Auf diese Weise wird die Längsmuskelbewegung sichtbar gemacht. Nahe dem fixierten Ende wird ein Loch in die Darmwand geschnitten und durch dieses ein Ballon eingeführt, der aufgeblasen wird und dem ein zweiter, wie bei *Morat*[4]), entgegengeschaltet ist und wie dort die Registrierung der Ringmuskelbewegungen vermittelt.

9. Überlebender Darm.

Daß der aus dem Körper ausgeschnittene Darm noch lebhafte Bewegungen ausführen kann, wurde zuerst von *Haffter*[5]) beschrieben.

[1]) l. c. Vol. **26**. p. 125.

[2]) l. c. Handb. d. physiol. Methodik. S. 121.

[3]) *D. Courtade* et *J. F. Guyon*, Influence motrice du grand sympathique sur l'intestin grêle. Archives de physiologie normale et pathologique. 5e série, T. **9**. p. 422 (1897). — Dieselben, Influence motrice du grand sympathique et de nerf érecteur sacre sur le gros intestin. Archives de physiologie normale et pathologique. 5e série. T. **9**. p. 880 (1897).

[4]) Siehe S. 615.

[5]) *Wilhelm Haffter*, Neue Versuche über den Nervus splanchnicus major und minor. Inaug.-Dissert. Zürich 1853.

Methodische Untersuchungen am überlebenden Darm wurden zunächst von *Salvioli*[1]) angestellt.

Der Versuch wird in folgender Weise angestellt:

Nach dem letzten Atemzuge des durch Verbluten getöteten Tieres wird die Bauchhöhle eröffnet und ein Stück des Jejunum abgetrennt. Dabei ist besonders darauf zu achten, daß das Mesenterium nicht verletzt wird. Ein Stück Bauchwand wird, nach Entfernung der Haut, mit dem Peritoneum nach oben auf einer Korkplatte ausgebreitet und festgesteckt. Hierauf wird der Darm gelegt und ebenfalls mit Nadeln befestigt. In den zuführenden Ast der Arteria mesenterica superior und die zugehörige Vene werden Kanülen gebunden. Die größeren Kollateralen werden sogleich unterbunden, die kleineren erst nach Einleitung der künstlichen Durchblutung. Das Präparat wird in eine feuchte Kammer, die auf einer Temperatur von 38° gehalten wird, gebracht und dann künstlich durchblutet. Als Durchblutungsflüssigkeit wird eine Mischung aus 30 Teilen frischen Kalbsblutes und 70 Teilen einer 0·75%igen NaCl-Lösung empfohlen. Reine Kochsalzlösung erwies sich ungenügend. Man wird sich bei der Anstellung derartiger Versuche die an anderen Organen in bezug auf Durchblutungsflüssigkeit gewonnenen Resultate zunutze machen.[2]) Der Druck, unter dem die Durchblutungsflüssigkeit durchgeleitet wird, darf keinenfalls über 100 *mm* Hg steigen, da sonst Ödeme auftreten. Zweckmäßig ist beim Kaninchen ein Druck von höchstens 60 *mm* Hg und beim Hunde ein solcher von höchstens 75 *mm* Hg.

Den Druck lieferte bei den Versuchen von *Salvioli* eine große *Mariotte*sche Flasche, die an einem verstellbaren Strick an der Decke aufgehängt und mit Wasser gefüllt war. Von hier floß das Wasser in die eine Mündung einer lufthaltigen *Wulff*schen Flasche; an deren zweite Öffnung war ein Gummischlauch angesetzt, der zu dem Hals der mit Blutmischung gefüllten Flasche führte. Diese entleerte durch einen am Boden befindlichen Tubus ihren Inhalt in die Darmarterie. Statt der beschriebenen Druckvorrichtung kann man natürlich jede andere, gerade zur Verfügung stehende[3]), verwenden. Das auf diese Weise durchblutete Darmstück zeigte eine Lebensdauer von 4—5 Stunden. Zweckmäßig ist es, den Darm von Zeit zu Zeit mit NaCl-Lösung abzuspülen.

Zur graphischen Darstellung der ausgeführten Kontraktionen eignet sich ein wenig beschwertes, sehr leichtes Fühlhebelchen, das durch einen Schlitz der feuchten Kammer nach außen ragt.

Zur näheren Erläuterung der Versuchsanordnung möge Fig. 193 und deren Beschreibung dienen, die der Arbeit *Salviolis* entnommen sind.

---

[1]) *Gaetano Salvioli*, Eine neue Methode für die Untersuchung der Funktionen des Dünndarms. Arch. f. Anat. u. Physiol. Suppl.-Bd. S. 95 (1880).

[2]) Vgl. hierzu: *R. Tigerstedt*, Versuche an überlebenden Organen der warmblütigen Tiere. Handb. der physiol. Methodik. Bd. 1. 4. Abteilung. S. 51.

[3]) Siehe auch *Tigerstedt*, l. c.

Mit der beschriebenen Methode lassen sich vor allem alle mit der Zirkulation in Zusammenhang stehenden Einflüsse auf die Darmbewegungen untersuchen.

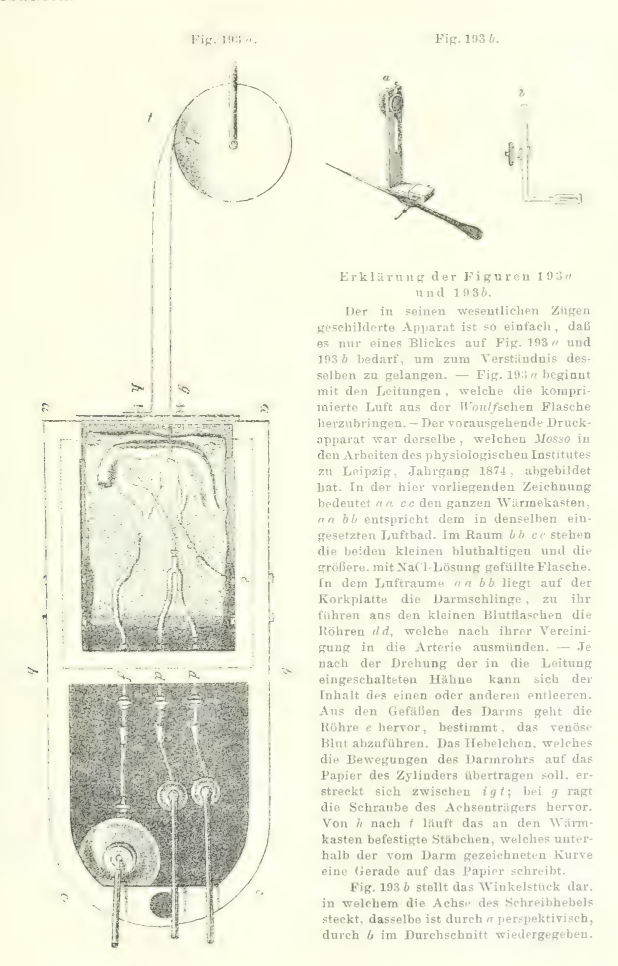


Fig. 193 *a*. Fig. 193 *b*.

Erklärung der Figuren 193 *a* und 193 *b*.

Der in seinen wesentlichen Zügen geschilderte Apparat ist so einfach, daß es nur eines Blickes auf Fig. 193 *a* und 193 *b* bedarf, um zum Verständnis desselben zu gelangen. — Fig. 193 *a* beginnt mit den Leitungen, welche die komprimierte Luft aus der *Woulf*schen Flasche herzubringen. — Der vorausgehende Druckapparat war derselbe, welchen *Mosso* in den Arbeiten des physiologischen Institutes zu Leipzig, Jahrgang 1874, abgebildet hat. In der hier vorliegenden Zeichnung bedeutet *a a c c* den ganzen Wärmekasten, *a a b b* entspricht dem in denselben eingesetzten Luftbad. Im Raum *b b c c* stehen die beiden kleinen bluthaltigen und die größere, mit NaCl-Lösung gefüllte Flasche. In dem Luftraume *a a b b* liegt auf der Korkplatte die Darmschlinge, zu ihr führen aus den kleinen Blutflaschen die Röhren *d d*, welche nach ihrer Vereinigung in die Arterie ausmünden. — Je nach der Drehung der in die Leitung eingeschalteten Hähne kann sich der Inhalt des einen oder anderen entleeren. Aus den Gefäßen des Darms geht die Röhre *e* hervor, bestimmt, das venöse Blut abzuführen. Das Hebelchen, welches die Bewegungen des Darmrohrs auf das Papier des Zylinders übertragen soll, erstreckt sich zwischen *i g t*; bei *g* ragt die Schraube des Achsenträgers hervor. Von *h* nach *t* läuft das an den Wärmkasten befestigte Stäbchen, welches unterhalb der vom Darm gezeichneten Kurve eine Gerade auf das Papier schreibt.

Fig. 193 *b* stellt das Winkelstück dar, in welchem die Achse des Schreibhebels steckt, dasselbe ist durch *a* perspektivisch, durch *b* im Durchschnitt wiedergegeben.

Wesentlich einfacher sind die Methoden der Darmuntersuchung, bei denen der Darm ohne Erhaltung der Zirkulation direkt in die „Nährflüssigkeit“ hineingebracht wird.

Cohnheim[1]) reißt den Darm des frisch getöteten Tieres (am besten Katze) vom Mesenterium los und wirft ihn in Blut oder eine Salzlösung, durch die kontinuierlich Sauerstoff hindurch perlt. Am längsten behielt der Darm im Blute seine Bewegungen (6—7 Stunden): doch erwies sich auch Ringerlösung sehr brauchbar: in ihr dauerten die Bewegungen bis zu 4 Stunden. Die benutzte Ringerlösung hat folgende Zusammensetzung: Na Cl 8·0; Na H CO_3 1·0; Ca Cl_2 0·1; K Cl 0·075; H_2O 1000·0.

Das Verfahren ist von *Magnus*[2]) weiter ausgebaut und zu einer äußerst bequemen und zuverlässigen Methode der Registrierung verwendet worden.

Die Art, wie *Magnus* seine verschiedenen Präparate herstellt und behandelt, wird am besten mit seinen eigenen Worten wiedergegeben[3]):

„Zu diesem Versuch eignet sich am besten die Katze, deren Darm besonders lebenszäh ist: auch das Kaninchen gibt gute Resultate, bei der Verwendung des Hundedarmes empfiehlt es sich dagegen, für länger dauernde Versuche statt der *Ringer*schen Flüssigkeit verdünntes Hundeblut zu verwenden. Die Tiere werden in Äthernarkose durch Nackenschlag oder Verbluten getötet, die Bauchhöhle eröffnet und der ganze Dünndarm herausgenommen. Bei Hund und Katze geschieht das durch einfachen raschen Zug an einer Darmschlinge, wobei sich der Dünndarm von seinem Mesenterium ablöst: beim Kaninchen muß die Schere verwendet werden. Der Darm wird dann sofort in eine bereitstehende Schale mit körperwarmer *Ringer*scher Flüssigkeit übertragen, durch welche Sauerstoff hindurchperlt und beginnt nach kürzester Zeit lebhafte Bewegungen auszuführen. Für länger dauernde Versuche ist es zweckmäßig, eine flache Zinkwanne mit Wasser durch einen kleinen Brenner auf 40° erwärmt zu halten und in diese auf kleine Metallklötzchen 2 mittelgroße Kristallisierschalen mit *Ringer*scher Flüssigkeit hineinzustellen. In die eine legt man den ganzen Darm für die Dauer des Versuches und entnimmt einzelne Darmschlingen, um sie in der zweiten Schale speziellen Beobachtungen zu unterwerfen.

Die *Ringer*sche Flüssigkeit hat folgende Zusammensetzung: Natriumbikarbonat 0·03%, Chlorkalzium 0·024%, Chlorkalium 0·042%, Kochsalz 0·9%. Bei ihrer Herstellung müssen die Salze in der angegebenen Reihenfolge gelöst werden, weil anderntalls Niederschläge entstehen. Zur graphischen Registrierung dient ein leichter Schreibhebel, welcher mit 1/3 bis 1 1/2 *g* belastet wird. Die Verbindung des Hebels mit dem Darm erfolgt durch einen Faden und *Engelmann*sche serres-fines, wie sie zu Herzver-

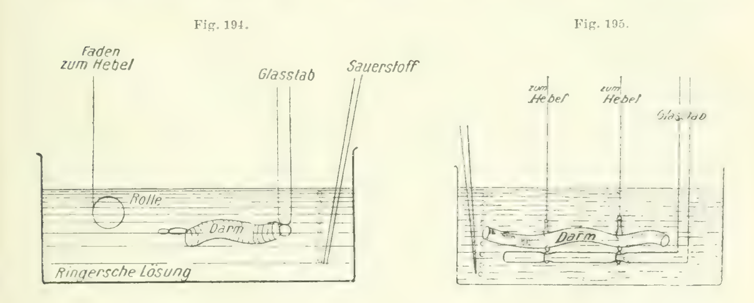
[1]) *Otto Cohnheim,* Versuche am isolierten überlebenden Dünndarm. Zeitschrift für Biologie. Bd. 38. S. 419 (1899).

[2]) *R. Magnus,* Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugetieren. *Pflügers* Archiv. Bd. **102**. S. 123 (1904).

[3]) *R. Magnus,* Die Bewegungen des Verdauungsrohres. Handbuch der physiologischen Methodik. Bd. 2. 2. Abteilung. S. 99, dort S. 140—143.

suchen üblich sind. Die Fixierung des Darmstückes geschieht dabei so, daß mit einer feinen gekrümmten Nadel ein dünner Faden durch die Serosa und angrenzende Muskularis gezogen wird, so daß das Gewebe in einer Ausdehnung von 1—2 *mm* gefaßt wird. Dieses stört die Bewegungen der Darmschlinge in keiner Weise. Der Faden wird dann an einem Glasstab geeigneter Form geknotet. Die Anordnung zur Registrierung der Längs- und Ringmuskelbewegung veranschaulicht Fig. 194 u. 195. Es ist darauf zu achten, daß während des Versuches die Temperatur des Bades konstant bleibt, weil Temperaturveränderungen auf die Bewegungsform der Präparate einwirken. Man tut gut, die *Ringer*sche Flüssigkeit, wenn sie durch Darminhalt stark verunreinigt ist, von Zeit zu Zeit zu wechseln. Nach diesem Verfahren führt der Darm stundenlang (bis zu 7 Stunden und mehr) die lebhaftesten Bewegungen aus und man kann die Pendelbewegungen der Längs- und Ringmuskulatur, die peristaltischen Reflexe

Fig. 194. Fig. 195.



und die Einwirkung der verschiedenen Bedingungen auf die Darmbewegung studieren.

Über weitere Details sowie über den Einfluß der Erstickung, des wechselnden Innendrucks und verschiedener Temperaturen vgl. *Magnus*.[1]) Ebenso lassen sich auch die Bewegungen des Dickdarms graphisch registrieren. Die Eigenschaft der Darmmuskulatur, in *Ringer*scher Flüssigkeit lange Zeit bewegungsfähig zu bleiben, ermöglicht es, noch weitere Analysen über die Rolle des Darmnervensystems für die Darmbewegung durchzuführen. Man kann nämlich die Darmwand in ihre einzelnen Schichten zerlegen und deren physiologische Eigenschaften untersuchen. Dieses Verfahren ist bisher nur für den Dünndarm der Katze ausgearbeitet worden (*Magnus* [2, 3]). Schneidet man eine Darmschlinge der Länge nach auf, so

[1]) *Magnus*, Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugetieren. I. Mitteilung. *Pflügers* Archiv Bd. **102**. S. 123 (1904).

[2]) *Magnus*, desgl. II. Mitteilung. Ibid. Bd. **102**. S. 349 (1904).

[3]) Neuerdings hat *Sick* (D. Arch. klin. Med. 1907) entsprechende Versuche am Magen ausgeführt.

kann man die Bewegungen sowohl der Ring- wie der Längsmuskulatur noch in völlig normaler Weise ablaufen sehen und graphisch registrieren. Von einer solchen „Darmplatte" läßt sich die Schleimhaut entfernen, indem man sie mit dem geraden Rande einer Glasplatte oder mit dem Skalpell bis auf die Submukosa abschabt. Der Bewegungstypus bleibt danach ungeändert, ebensowenig ändern sich die Bewegungen nach Entfernung der Submukosa. Zu diesem Zwecke stößt man entweder eine Präpariernadel vom Rande her zwischen Submukosa und Muskularis des Magens durch und trennt die beiden Schichten, indem man die Nadel der Breite nach zwischen ihnen durchführt, oder aber man macht zunächst an einer Ecke mit zwei Pinzetten die Muskularis von der Submukosa frei, faßt jeden der beiden Zipfel mit Daumen und Zeigefinger und zieht sie so auseinander. Alle diese Manipulationen müssen, da sie an der Luft geschehen, möglichst schnell vorgenommen und die Präparate dann gleich wieder in *Ringer*sche Flüssigkeit gebracht werden. Mit der Submukosa wird zugleich der *Meißner*sche Plexus entfernt.

Charakteristische Änderungen der Bewegungen erhält man erst dann, wenn die Trennung der Schichten zwischen Längs- und Ringmuskulatur vorgenommen wird. Bei diesem Verfahren bleibt ein großer Teil des *Auerbach*schen Plexus an der Innenseite der Längsmuskulatur haften, während bei geeignetem Vorgehen die Ringmuskulatur mehr oder weniger vollständig vom *Auerbach*schen Plexus getrennt werden kann. Zur Herstellung solcher „zentrenfreier" Präparate der Ringmuskulatur benutzt man Darmschlingen, welche mindestens schon eine halbe Stunde nach dem Tode des Tieres in *Ringer*scher Flüssigkeit gelegen haben, da man andernfalls die Präparate in so stark tonischer Kontraktion erhält, daß sie zu Versuchen nicht geeignet sind. Man nimmt dann eine Darmschlinge in die Hand, sticht zunächst an der dem Mesenterialansatz gegenüberliegenden Seite eine Präpariernadel zwischen Längs- und Ringmuskulatur durch (die Nadel steht dabei senkrecht zur Längsrichtung des Darmes) und zieht nun mit der Nadel ein möglichst breites Stück der Längsmuskulatur in toto ab. Dieses Verfahren wiederholt man um den ganzen Umfang der Darmschlinge herum, wobei nur an der Stelle des Mesenterialansatzes die Präparation schwieriger wird. Darauf werden mit einer feinsten Hakenpinzette alle noch stehengebliebenen Reste der Ringmuskulatur entfernt; es schadet nichts, wenn auch von den obersten Schichten der sehr dicken Ringmuskulatur einiges mit abgezogen wird.

Darauf schneidet man an der Stelle, wo die Präparation am besten gelungen ist, einen Ring von $^1/_2$—1 *cm* Breite heraus, schneidet diesen auf und befestigt das Präparat zum Versuch in einer Vorrichtung, wie sie Fig. 194 oder 195 veranschaulichen. Anfangs muß der Hebel ziemlich stark belastet werden, um den Tonus des Präparates zu überwinden. Nachher genügt geringe Belastung. Nach 10—30 Minuten hat sich der Muskelstreif von dem Eingriff erholt und antwortet nun auf Dehnung mit einer einzigen kräftigen Kontraktion, auf Dauerreiz mit Tetanus, während Automatie, Rhythmizität und refraktäre

Periode sich nicht nachweisen lassen.[1] Für die Zwecke des gewöhnlichen physiologischen Versuchs genügt diese Präparationsweise in den meisten Fällen, denn die geringen Reste des *Auerbach*schen Plexus, welche an der Oberfläche der Ringmuskulatur stehengeblieben sind, sind zu sehr beschädigt, um die physiologischen Eigenschaften des Präparates zu beeinflussen. Andere Anforderungen sind dagegen für pharmakologische Versuche zu stellen. Durch erregende Gifte werden nämlich selbst kleine, stehengebliebene Reste des Plexus wieder zum Funktionieren gebracht. Sie müssen daher vollständig zerstört werden. Dieses geschieht am zweckmäßigsten dadurch[2], daß man nach vollständiger Entfernung der Längsmuskulatur die freiliegende Oberfläche der Ringmuskelschicht durch einmaliges Bestreichen mit einem Kristall von Silbernitrat verätzt und danach schnell mit *Ringer*scher Flüssigkeit abspült.

Dann bleibt die Ätzung oberflächlich und die tieferen Ringmuskellagen werden nicht geschädigt. Damit nun aber Gifte an die Muskularis überhaupt hingelangen können, muß man dieser eine freie Oberfläche verschaffen. Es wird daher etwa $^1/_2$ Stunde später die Ringmuskelschicht von der Submukosa abgezogen. Solche Objekte führen auch nach Zusatz der stärksten Erregungsmittel, z. B. Chlorbaryum, nur eine einzige glatte Dauerkontraktion und keine rhythmischen Bewegungen aus. Die Herstellung von Präparaten der Längsmuskulatur mitsamt dem *Auerbach*schen Plexus durch einfaches Abziehen ist schon im vorhergehenden beschrieben worden. Falls man von einer Katze nur solche Präparate gewinnen will und keine intakten Darmschlingen oder Ringmuskelstücke braucht, ist es empfehlenswert, den Dünndarm überhaupt nicht aus dem Tiere zu entnehmen, sondern nach Eröffnung der Bauchhöhle den Längsmuskelstreifen mit der Präpariernadel gleich in situ abzuziehen. Man erhält dann meist längere und bessere Präparate. Diese Längsmuskelstücke erholen sich meist sehr rasch. Sie zeichnen sich durch eine außerordentlich große Dehnbarkeit aus und führen nach einiger Zeit lebhafte Spontanbewegungen aus.[3] Sie zeigen auf Dauerreiz rhythmische Bewegungen und besitzen refraktäre Periode.[4]

Bei entscheidenden Versuchen tut man gut, nachher zu kontrollieren, ob wirklich der *Auerbach*sche Plexus einigermaßen vollständig geblieben ist. Zu diesem Zwecke werden die Objekte für $^1/_2$ Stunde in eine Lösung von 0·06%iger Methylenblau- und 0·6%iger Kochsalzlösung gebracht und nachher in dieser Flüssigkeit ohne Deckglas bei schwacher Vergrößerung untersucht. (Über die Herstellung noch anderer Präparate aus der Darmwand: Ringmuskulatur mit Zentren etc. vgl. *Magnus*.“[5])

[1]) *Magnus*, Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugetieren. II. Mitteilung. *Pflüger*s Archiv. Bd. **102**. S. 349 (1904). — Desgl. IV. Mitteilung. Rhythmizität und refraktäre Periode. Ibidem. Bd. **103**. S. 525 (1904).

[2]) *Magnus*, desgl. V. Mitteilung. Wirkungsweise und Angriffspunkt einiger Gifte am Katzendarm. Ibidem. Bd. **108**. S. 1 (1905).

[3]) *Magnus*, l. c. II. Mitteilung.

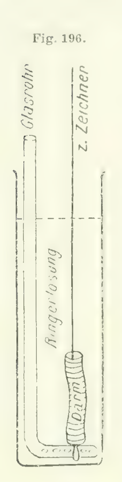
[4]) *Magnus*, l. c. IV. Mitteilung.

[5]) *Magnus*, desgl. III. Mitteilung. Die Erregungsleitung. Ibidem. Bd. **103**. S. 515 (1904).

Das oben[1]) beschriebene *Magnus*sche Verfahren der Registrierung der Längsmuskulatur wird wohl wegen seiner bequemen Handhabung und wegen der guten Resultate, die es liefert, am meisten angewandt. Ich habe dieser Versuchsaufstellung nun noch eine Modifikation gegeben[2]), die besonders wegen ihrer bedeutenden Vereinfachung mancherlei Vorteile bietet.

Wie aus der beigefügten Fig. 196 zu ersehen ist, verwende ich statt der flachen Kristallisationsschalen etwa 13 *cm* lange und 3·7 *cm* weite Glasgefäße. Wenn diese mit 100 cm^3 Ringerlösung gefüllt werden, halten sie sich gut in dem mit Wasser gefüllten Thermostaten schwimmend. Die Wand der herausgeschnittenen Darmschlinge wird nun an beiden Enden mittelst einer feinen Nadel mit je einem Seidenfaden versehen, der um die durchstochenen freien Darmenden festgebunden wird. Der eine Faden wird dann durch einen zweiten Knoten direkt auf den Glashalter (s. Fig. 196) aufgebunden und das Darmstück mit dem Halter in das Glasgefäß gebracht. Der Halter besteht aus einem rechtwinklig gebogenen Glasrohr, dessen unteres Ende zugeschmolzen ist. Der untere quere Schenkel hat eine Anzahl feiner Löcher. Der Halter dient nämlich gleichzeitig zur Zuführung des Sauerstoffes. Das obere Ende des Darmes wird nun durch den hier eingebundenen Seidenfaden direkt mit dem Schreibhebel in Verbindung gebracht. Während also bei *Magnus* ein Glasstab, eine Glasröhre für die Sauerstoffzufuhr und eine Stange mit daran befestigter in die Ringerlösung eintauchender Rolle notwendig sind, werden diese Teile bei der beschriebenen Anordnung durch das einfach gebogene Glasrohr ersetzt und so das Einbringen des Darmes in die Ringerlösung wesentlich vereinfacht. Außerdem ist die Verteilung des Sauerstoffes in der Flüssigkeit eine gleichmäßigere. Schließlich ist in dem von mir verwandten tiefen Gefäße mit kleiner Oberfläche die Temperatur leichter konstant zu halten als bei den flachen Schalen.[3])

Fig. 196.



Schluß.

In der vorliegenden Abhandlung habe ich mich auf die Methoden zur Untersuchung der Darmbewegungen beschränkt. Für einige zu dem Thema in naher Beziehung stehende Hilfsoperationen oder sonstige Verfahren möge ein kurzer Literaturhinweis genügen.

[1]) Siehe S. 621.

[2]) *A. Lohmann*, Eine bequeme Modifikation der *Magnus*schen Registrierung von Darmbewegungen. Zeitschr. f. biol. Tech. u. Meth. Bd. 2. Nr. 6. S. 272 (1912).

[3]) Glasteile wie Schreibhebel können durch den Mechaniker des hiesigen Instituts, Herrn *M. Rinck*, bezogen werden.

Zur plethysmographischen Darmregistrierung gibt *Edmunds*[1]) einen brauchbaren Apparat an. In der Arbeit findet sich auch eine Beschreibung anderer Darm-Plethysmographen.

Über Anatomie und Chirurgie der Darmnerven findet sich eine ausführliche Darstellung bei *Magnus*.[2])

Die allgemeine Technik der Behandlung der Tiere ist von *Pawlow*[3]) dargestellt. Über das zur Narkose zu benutzende Mittel wäre noch zu erwähnen, daß nach den meisten Angaben der Äther am wenigsten Einfluß auf die Darmtätigkeit ausübt. Man verabfolgt ihn am meisten durch Inhalation. Bei Kaninchen ist auch die subkutane Injektion von 1—2 cm^3 sehr praktisch. Hunden gibt man, trotz der Beeinflussung der Darmtätigkeit, am besten zunächst 0·5—1 *cg* Morphium muriaticum pro Kilogramm Tier. Die weitere Narkose wird entweder durch Äther oder durch das bekannte Äther-Alkohol-Chloroform-Gemisch herbeigeführt. Reines Chloroform wird von Hunden häufig nicht vertragen. Ein sehr bequemes Narkotikum stellt für Kaninchen und Katzen das Urethan dar, das man subkutan gibt und zwar etwa 1·3 *g* pro Kilo Tier; doch soll auch das Urethan eine ungünstige, lähmende Wirkung auf den Darm ausüben. Bei Kaninchen habe ich mit ausgezeichnetem Erfolge, ohne eine Wirkung auf den Darm zu beobachten, Chloralose angewandt. Man stellt sich eine 40° warme 1%ige Lösung her und gibt von ihr intravenös ca. 15 cm^3. Beim Kaninchen ist die Injektion in die dem Ohrrande parallel verlaufende Vene recht einfach. Man schneidet die Haare weg und betupft die betreffende Stelle mit Äther; die Venen schwellen dann stark an. Mit einem flachen Scherenschnitt entfernt man noch die Haut über der Stelle der Vene, an der man einstechen will. Man kann dann bequem die Nadel der Rekordspritze einstechen und die Lösung einspritzen.

[1]) *Arthur Edmunds*, An intestinal plethysmograph. Journal of physiology. Vol. 22. p. 380 (1898).

[2]) *R. Magnus*, Die Bewegungen des Verdauungsrohres. Handb. d. physiol. Meth. l. c. S. 126 ff.

[3]) *J. Pawlow*, Allgemeine Technik der physiologischen Versuche und Vivisektionen. Handb. d. physiol. Meth. Bd. 1. Abt. 1. S. 1.

Ergänzungen zur „Allgemeinen chemischen Laboratoriumstechnik".

(Bd. I, S. 1—175.)

Von **Richard Kempf**, Berlin-Dahlem.

Nachträge zum ersten Kapitel.

Über die Materialien chemischer Geräte.

Vgl. Bd. I, S. 3—13.

1. Silikatglas. (Vgl. S. 3—5.)

Für manche Zwecke der Laboratoriumstechnik, namentlich für Versuche bei höheren Temperaturen, mag eine neue, Rubidium enthaltende Glassorte von Nutzen sein. Ersetzt man bei der Glasfabrikation in dem gewöhnlichen Glase, das im wesentlichen aus Natrium-kalzium-silikat besteht, das Natrium durch Kalium, so erhält man, wie erwähnt, das schwerer schmelzende Kaliglas. Nun entsteht nach *A. Stock*[1]) ein noch beträchtlich höher schmelzendes Glas, wenn man in der homologen Reihe der Alkalimetalle folgerichtig noch einen Schritt weiter geht und das nächst schwerere Element: das Rubidium an die Stelle von Natrium bzw. Kalium setzt; während Kegel aus Natrium-kalzium-silikat und Kalium-kalzium-silikat bei 800° bzw. 900° vollständig zusammenschmolzen, trat bei dem entsprechenden Versuch mit der Rubidiumverbindung dies erst bei Temperaturen über 1000° ein.

Dem Jenaer Geräteglas vergleichbar an Widerstandsfähigkeit gegen schroffen Temperaturwechsel sowie gegen die Einwirkung chemischer Agenzien ist eine neuere Glassorte der rheinischen Glasfabrik Köln-Ehrenfeld: das „Rheinische Geräteglas". In Gefäßen aus diesem Glase können Flüssigkeiten unbedenklich über freier Bunsenflamme ohne Drahtnetz erhitzt werden; auf ca. 180° erwärmte Geräte vertragen in der Regel das sofortige Eintauchen in kaltes Wasser, ohne zu springen.[2]) Die Widerstandsfähigkeit dieses Materials, sowie einiger bekannter Sorten Geräteglas, gegen die Einwirkung von Wasser erhellt aus folgender Tabelle[3]):

[1]) *A. Stock,* Glas, D. R.-P. 240.085; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 608 (1911).

[2]) Vgl.: *R. Muencke,* Ein neues Geräteglas. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 676 (1910).

[3]) Nach Versuchen der Physik.-Techn. Reichsanstalt in Charlottenburg.

	In 1 Std. an Wasser v. 18° Tausendstel Milligramm Na_2O abgegeben	In 3 Stden. an Wasser v. 80° Tausendstel Milligramm Na_2O abgegeben
Quarzglas	—	—
Jenaer Glas 59^{III}	2	3
Rheinisches Geräteglas	2	9
Jenaer Thermometerglas 16^{III}	12—36	45—150
Bleikristallglas	36—150	150—600
Mangelhafte Gläser	über 150	über 600

Beim Arbeiten mit Substanzen, die gegen Alkali sehr empfindlich sind, wie z. B. mit Wasserstoff-peroxyd[1]), Wasserstoff-persulfiden[2]), labilen Enol-Keto-Formen[3]) usw., ist es für den Erfolg oft von ausschlaggebender Bedeutung, daß man die Glasgefäße, mit denen man operiert, vor der Benutzung mit Mineralsäure auskocht[4]) oder wenigstens mit Salzsäuregas ausdünstet.[2]) Hydro-trisulfid läßt sich z. B. nur unzersetzt destillieren, wenn man vorher durch sämtliche Teile der Destillationsapparatur einen Strom trockenen Salzsäuregases leitet[5]); und *Knorr*[6]) benutzte bei seinen Untersuchungen über die Enol-Keto-Desmotropie des Azetessigesters Glasgefäße aus Jenaer Geräteglas, die mit Salzsäure ausgekocht worden waren oder wochenlang in Salzsäure gelegen hatten. Konnte doch bei diesen zuletzt genannten Untersuchungen schon Zigarettenrauch umlagernd wirken.

Für die Aufbewahrung leicht zersetzlicher Präparate wendet man besser Flaschen aus Quarzglas an (siehe unten S. 637).

Chlorophyll-Derivate nehmen aus Glas leicht mineralische Bestandteile auf, durch die das Magnesium verdrängt wird. *Willstätter* und seine Schüler führten daher manche Reaktionen mit Chlorophyllkörpern in Silbergefäßen aus.[7]) *Milch* nimmt beim Sterilisieren in Glasflaschen Kieselsäure aus dem Glase auf.[8])

Bezüglich der Bestimmung der Löslichkeit des Glases in Wasser sei auf die Literatur[9]) verwiesen.

Während gewöhnliches Thüringer Glas für ultraviolette Strahlen mit kleineren Wellenlängen als etwa 330 $\mu\mu$ undurchlässig ist, läßt das von

[1]) Siehe z. B.: Die Glashütte. 1910, S. 331; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 286 (1911).

[2]) *J. Bloch* und *F. Höhn*, Über Wasserstoffpersulfid. I. Geschichte und rohes Wasserstoffpersulfid. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **41**, S. 1967 (1908).

[3]) *A. Michael* und *H. Hibbert*, Über die vermeintlichen Beziehungen zwischen Dielektrizitätskonstante und isomerisierender Kraft organischer Lösungsmittel bei Enol-Keto-Desmotropen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **41**, S. 1088, Fußnote 3 (1908).

[4]) *Michael* und *Hibbert*, loc. cit.

[5]) *Bloch* und *Höhn*, loc. cit. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **41**, S. 1972.)

[6]) *L. Knorr*, Studien über Tautomerie. IV. Mitt.: *Knorr*, *Rothe* und *Averbeck*, Desmotropie beim Azetessigester. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 1150 (1911).

[7]) Vgl. *E. W. Mayer*, Fortschritte auf dem Gebiete der Chlorophyllchemie. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1364, Fußnote 36 (1911).

[8]) *Schulz*, Der Übergang von Kieselsäure in die Milch beim Sterilisieren in Glasflaschen. Münchener med. Wochenschr. Bd. **59**, S. 353 (1912).

[9]) Vgl. z. B.: *A. Stock* und *A. Stähler*, Praktikum der quantitativen anorganischen Analyse. Berlin (Jul. Springer) 1909, S. 34ff.

Zschimmer[1]) erfundene Uviolglas Strahlen bis zu 253 $\mu\mu$ Wellenlänge hindurch.[2]) Die Absorption der ultravioletten Strahlen hängt aber auch wesentlich von der Dicke der Glaswand ab, namentlich wenn es sich um die kürzerwelligen ultravioletten Strahlen handelt. Für das Uviolglas geht dies aus der folgenden Tabelle hervor, die für verschiedene Dicken der Glaswand und für verschiedene Wellenlängen der ultravioletten Strahlen den durchgelassenen Bruchteil der auftreffenden Strahlung in Prozenten angibt:

Wellenlänge in $\mu\mu$	325	309	280
1·0 *mm* Glasdicke	100%	95%	56%
0·8 „ „	100%	96%	63%
0·6 „ „	100%	97%	71%
0·4 „ „	100%	98%	79%
0·2 „ „	100%	99%	89%

Zur Orientierung seien die Wellenlängen einiger *Fraunhofer*schen Linien des sichtbaren von etwa 800—320 $\mu\mu$ reichenden Spektrums hier angeführt:

A . . .	760	rot
B . . .	687	„
C . . .	656	„
D . . .	589	gelb
E . . .	527	grün
F . . .	486	blau
G . . .	431	violett
H_1 . . .	397	„

In optischer Beziehung ein Gegenstück zum Uviolglas ist das von *Schanz* und *Stockhausen*[3]) erfundene Euphosglas.[4]) Diese durch geringe Mengen von Chromoxyd grünlichgelb gefärbte Glassorte verschluckt die ultravioletten Strahlen, die von gewöhnlichem Glase noch zu etwa 5% durchgelassen werden[5]), fast vollständig, während die sichtbaren Strahlen nur ganz geringfügig (1—5%) geschwächt werden — infolge der Absorption auch eines Teils der blauen und violetten Strahlen. Mit dem Euphosglas steht also für photochemische Versuche ein fast unsichtbares Filter gegen

[1]) Vgl.: *B. Müller,* Chemische Technologie des Glases. Leipzig 1911 (Joh. Ambr. Barth), S. 13. — Ferner: *E. Zschimmer*, Physikalische Eigenschaften des Glases als Funktionen der chemischen Zusammensetzung. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **11**, S. 629 (1905).

[2]) Vgl. darüber auch die Diskussion zwischen *A. Coehn, M. Trautz* und *C. Runge*, Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. 18, S. 658 (1912).

[3]) Vgl.: *B. Müller,* Chemische Technologie des Glases. Leipzig 1911 (Joh. Ambr. Barth), S. 13.

[4]) Siehe z. B.: *C. Mannich*, Lichtfilter für ultraviolette Strahlen, Sitzung der Deutsch. pharmaz. Ges.; vgl.: Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1167 (1909). — Das Euphosglas wird angefertigt von *Gebr. Putzler,* Glashüttenwerke, G. m. b. H., Penzig, Schlesien.

[5]) Vgl.: *J. Stoklasa* und *W. Zdobnický*, Photochemische Synthese der Kohlenhydrate in Abwesenheit von Chlorophyll. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 945 (1910); Glimmer läßt dagegen nach denselben Autoren 94% der einfallenden ultravioletten Strahlen hindurch.

ultraviolette Strahlen zur Verfügung. Eine praktische Anwendung findet das Euphosglas ferner dadurch, daß Brillen daraus hergestellt werden, mit denen man beim Arbeiten mit einer an ultravioletten Strahlen reichen Lichtquelle, z. B. der Uviol- oder Quarz-Quecksilberlampe, seine Augen vor den sehr schädlichen ultravioletten Strahlen („Schneeblindheit", „Gletscherbrand") schützen kann.

Zur Aufnahme hypodermischer Lösungen ist nach *Baroni*[1]) das sog. „Fiolax"-Glas besonders gut geeignet.

Die von *Zenghelis*[2]) aufgestellte Behauptung, daß Glasgefäße für Gase durchlässig seien, ist von vielen Seiten sogleich als unrichtig angefochten worden.[3]) Dagegen vermögen die als α-Strahlen aus zerfallenden Radiumemanationsatomen mit $^1/_{10}$ Lichtgeschwindigkeit ausgeschleuderten Heliumatome die Wand dünner Glasröhrchen zu durchdringen.[4]) Ebenso entweichen aus einem mit Radiumemanation gefüllten dünnen Glasrohr wenigstens 23 β-Strahlenbündel.[5]) Auch bei höherer Temperatur ist Glas (Jenaer Glas 59^{III}) nicht ganz undurchlässig für Helium.[6]) Nach *Berthelot* ist weiches Glas bereits bei 550° in geringem, bei 600—650° in sehr beträchtlichem Maße durchlässig für Luft.[7]) Kohlenoxyd diffundierte bei 625—650° in zwei Stunden zu 10%. Aus Jenaer Glas entwich Wasserstoff bei 700° in $^1/_2$ Stunde zu 10%, Sauerstoff dagegen selbst bei 800° in $1^1/_2$ Stunden noch gar nicht; erst oberhalb dieser Temperatur begann die Diffusion.[8])

---

[1]) *E. Baroni*, Normalglas und Jenenser Fiolax-Glas. Giorn. Farm. Chim. T. **61**. p. 345 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 1230.

[2]) *C. Zenghelis*, Zur Frage der Erhaltung des Gewichtes. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **65**, S. 341 (1909). — Derselbe, Zur Frage der Durchlässigkeit des Glases für Dämpfe. Ebenda Bd. **72**, S. 425 (1910).

[3]) *H. Landolt*, Sitzung der Kgl. Preuß. Akad. d. Wissenschaften vom 22. IV. 1909; vgl.: Derselbe, Über die Erhaltung der Masse. Abh. d. Bunsengesellsch., Halle a. S. (W. Knapp) 1909, S. 41 und 10; ferner: Derselbe, Über die Durchlässigkeit des Glases für Dämpfe. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **68**, S. 169 (1910). — *A. Stock* und *H. Heynemann*, Über die Durchlässigkeit des Glases für Gase. Bemerkungen zu einer Arbeit des Hr. *C. Zenghelis*, Athen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **42**, S. 1800 (1909). — *B. Tollens*, Über die behauptete Durchlässigkeit des Glases für Joddampf. Ebenda. S. 2013. — *A. V. Elsden*, Über die vermeintliche Durchlässigkeit des Glases. Chem.-Ztg. Bd. **34**. S. 160 (1910). — Vgl. auch: *W. Herz*, Bericht über die Fortschritte der physikal. Chem. im Jahre 1909. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 81 (1910) und: *A. Stock*, Die experimentellen Ergebnisse anorganisch-chemischer Forschung im Jahre 1909. Ebenda. S. 115.

[4]) Vgl. z. B.: *A. Stock*, Die experimentellen Ergebnisse . . . . . Chem.-Ztg. Bd. **34**. S. 115 (1910).

[5]) *J. Danysz*, Über die β-Strahlen der Radiumgruppe. Ebenda. Bd. **36**. S. 569 (1912).

[6]) Tätigkeit der physikal.-techn. Reichsanstalt 1911. Zeitschr. f. Instrumentenkunde. **1912**, S. 122.

[7]) *Berthelot*, Permeabilität von Röhren aus geschmolzenem Quarz. Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. **140**, p. 1159 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, I (1578).

[8]) *Berthelot*, Durchlässigkeit von Glasgefäßen. Compt. rend. T. **140**, p. 1286 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, II, S. 1. — Vgl. auch: Derselbe, Durchlässigkeit glasiger Stoffe für Gase. II. Permeabilität von Glasgefäßen. Annal. Chim. Phys. [8]. T. **6**, p. 164 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, II, S. 1305.

Glasröhren entwickeln bei sehr niedrigem Drucke, namentlich beim Erhitzen, Gase (ebenso Porzellan- und Quarzglasröhren.[1]) *Delachanal*[2]) erhielt beim Erhitzen eines alten, durch Sonnenlicht violett gefärbten Glases im Vakuum aus 100 *g* nicht weniger als 71 cm^3 Kohlendioxyd, 2·9 cm^3 Sauerstoff und 0·9 cm^3 Stickstoff. —

Um Glasgeräte vorübergehend mit Schriftzügen, Ziffern od. dgl. zu versehen, bedient man sich am einfachsten der im Handel befindlichen farbigen Fettstifte. Die Stelle, auf der man schreiben will, muß trocken und sauber und am besten etwas angewärmt sein. Zum dauernden Zeichnen von Glassachen ritzt man die Schriftzüge mit einem in einem Stift befestigten Diamantsplitter (Glaserdiamanten) in das Glas ein oder man benutzt dazu einen in ein Stück Blei eingeschmolzenen scharfkantigen Splitter von Karborundum (Siliziumkarbid: SiC)[3]) oder Korund (Aluminiumoxyd). Schonender fixiert man Schriftzüge auf Glas mit Hilfe von Flußsäure in folgender Weise. Man überzieht die betreffende Glasoberfläche mit einer dünnen Wachsschicht, graviert in diese die gewünschten Zeichen ein und setzt dann die Stelle Flußsäuredämpfen aus, die man z. B. aus einer Mischung von gepulvertem Flußspat und konzentrierter Schwefelsäure durch Erwärmen auf dem Wasserbade entwickelt. Einfacher ist es, sich der käuflichen flußsäurehaltigen Glasätztinte zu bedienen, die man mit Hilfe einer gewöhnlichen Schreibfeder auf den Glasgegenstand aufträgt.

Mattglas kann ebenfalls durch Anätzen mit Flußsäuredämpfen oder mit Hilfe eines Sandstrahlgebläses erhalten werden.[4]) Mit Wasser verdünnte Flußsäure liefert dagegen mehr oder weniger vertiefte blanke Ätzung des Glases.[5])

Um das Zerschneiden weiter Glasröhren, das Absprengen von Flaschen usw. zu erleichtern, hat *Lobeck*[6]) einen anscheinend recht praktischen Glasrohrschneider (Fig. 197) vorgeschlagen. Er besteht aus einer rinnenförmigen Unterlage für das Rohr und einem in Führung laufenden Diamantsplitter oder Stahlmesser. Den Vorschlag, Glasröhren oder -flaschen mit Hilfe eines elektrisch erhitzten Widerstandsdrahtes abzusprengen,

---

[1]) *M. Guichard*, Über die sich aus den Wandungen der Glas-, Porzellan- und Quarzglasröhren entwickelnden Gase. Compt. rend. T. **152**, p. 876 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, I, S. 1659.

[2]) *B. Delachanal*, Versuche mit einem Fensterglas älterer Herstellung, welches unter dem Einfluß der Sonnenstrahlen violett geworden war. Compt. rend. T. **148**, p. 639 (1909); Chem. Zentralbl. 1909, I, S. 1362.

[3]) Die Härte des Siliciumkarbids ist nur etwas geringer als die des Diamanten, größer als die des Korunds. — Siehe über Karborundum z. B.: *F. Böck*, Einige Neuerungen in der technischen Anwendung der Kieselsäure. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 232 (1911); ferner: Ebenda, S. 895.

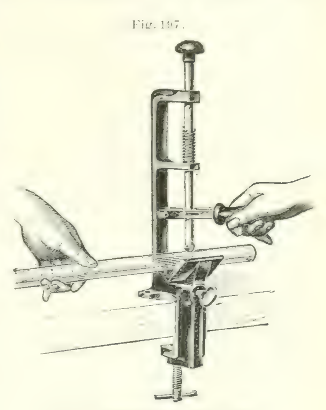
[4]) Vgl. z. B.: Die Glashütte. 1910, S. 208; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 286 (1911).

[5]) Siehe z. B.: *B. Müller*, Über eigenartige Glasätzmethoden, Sprechsaal 1911, S. 361; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 417 (1912).

[6]) *Lobeck*, Glasrohrschneider. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1025 (1910).

hat zuerst *Hollinshead*[1]), dann *Jouard*[2]) veröffentlicht: Man macht in die völlig trockene Glasoberfläche an der betreffenden Stelle einen kurzen Feilstrich, legt einen die Elektrizität schlecht leitenden Draht (aus Manganin, Nickelin, Constantan od. dgl.) ringförmig um die Flasche und verbindet die durch zwischengelegte Asbestpappe voneinander isolierten Enden des Drahtes mit Hilfe von Kupferdraht und unter Zwischenschaltung eines Regulierwiderstandes mit einer Stromquelle, z. B. einer Lichtleitung von 110 Volt. Schaltet man dann allmählich soviel Strom ein, daß der Widerstandsdraht rot zu glühen beginnt, so gelingen Absprengungen selbst in Spiralen oder Kurven je nach der dem umgelegten Draht gegebenen Form.

Fig. 197.



Glasrohrschneider nach *Lobeck*.

Über die Selbst-heilung feiner Sprünge in Glasplatten, Thermometern od. dgl., eine Art Vernarbungserscheinung beim bloßen Liegen der betreffenden Glasgeräte, stellte *Piccard*[3]) interessante Versuche an, durch die er die Plastizität des Glases bei gewöhnlicher Temperatur nachwies. — Die Bruchfestigkeit von Glasplatten ist proportional dem Quadrat der Dicke. Eine Platte von 9 *mm* Dicke hat z. B. 81% der Festigkeit einer 10 *mm* dicken Platte, und mit einer Verdoppelung der Glasdicke wächst die Bruchfestigkeit auf das Vierfache.[4])

Über die Versilberung von Glas liegen eingehende Untersuchungen von *Kohlschütter* und *Fischmann*[5]) vor. Für die Abscheidung eines guten Silberspiegels ist mit in erster Linie Reinheit der Glasoberfläche und eine nicht zu große Reaktionsgeschwindigkeit der Silberabscheidung maßgebend. Eine bewährte Vorschrift für das Hervorrufen prächtiger Silberspiegel in Reagenzgläsern, Kolben, Uhrgläsern od. dgl. ist z. B. die folgende[6]): Man löst 10 *g* Silbernitrat in ca. 200 *cm*³ destilliertem Wasser, setzt vorsichtig so viel Ammoniak hinzu, daß sich das zunächst ausfallende Silber-

[1]) *W. H. Hollinshead*, Glasschneiden. Journ. of Analytic. Chem. Vol. **3**, p. 135 (1889) und Journ. Americ. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 1147 (1909); vgl.: Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 593 (1909).

[2]) *F. L. Jouard*, Glasschneiden mittelst eines elektrischen Drahtes. Journ. Americ. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 654 (1909); vgl.: Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 401 (1909).

[3]) *J. Piccard*, Plastizität und Adhäsivität des Glases bei gewöhnlicher Temperatur. Diamantschnitt. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **33**, S. 3635 (1902).

[4]) Vgl. *J. Piccard*, loc. cit.

[5]) *V. Kohlschütter* und *Emilie Fischmann*, Über Bildungsformen des Silbers. I. Über das Spiegelsilber. *Liebigs* Annalen d. Chem. Bd. **387**, S. 86 (1912).

[6]) Aus dem Kolleg über anorg. Experimentalchemie von Exz. *Emil Fischer*.

oxyd bis auf eine geringe Trübung eben wieder löst, filtriert und verdünnt mit Wasser auf ein Liter (Lösung I). Ferner löst man 2 *g* Silbernitrat in einem Liter siedendem Wasser, fügt 1·65 *g* feingepulvertes Seignettesalz (Kalium-natrium-tartrat) hinzu und kocht kurz, bis der anfangs weiße Niederschlag grau geworden ist; dann filtriert man noch heiß und bewahrt die Flüssigkeit an einem nicht zu hellen Orte auf (Lösung II). Zum Gebrauch bedient man sich eines Gemisches gleicher Volumina der beiden Lösungen, das man sich in passender Menge erst kurz vor der Benutzung herstellt, und erwärmt es in dem zu versilbernden Gefäß unter Umschütteln im Wasserbade, bis die gewünschte Wirkung eingetreten ist. Das betreffende Glasgerät wird vorher mit Natronlauge, dann mit Schwefelsäure ausgekocht, darauf nacheinander mit Wasser, Alkohol und Äther ausgespült und getrocknet.

Glaswolle, wie sie für die Laboratoriumstechnik u. a. für Filtrationszwecke von erheblicher Wichtigkeit ist, wird jetzt in solcher Feinheit des Gespinstes hergestellt, daß ein 250.000 *m* langer Faden nur 10 *g* wiegt.[1] Da Glaswolle ein überaus poröses Material darstellt und große Flüssigkeitsmengen aufzusaugen vermag, ohne dadurch gasundurchlässig zu werden, eignet es sich vorzüglich als Füllmaterial für Gaswaschflaschen, Kaliapparate od. dgl. Füllt man in den toten Raum eines solchen Apparates Glaswolle in der Weise ein, daß sie in die Absorptionsflüssigkeit zum Teil eben eintaucht, so steigt diese infolge der Kapillaritätskräfte in der Glaswolle empor, benetzt diese durch und durch und bietet so dem Gasstrom eine sehr große Oberfläche dar.[2])

Zum Reinigen von Glasgefäßen ist ein einfacher Apparat angegeben worden[3]), der gestattet, röhrenförmige Glasgeräte, z. B. Kapillaren, mit starken Säuren gründlich und bequem zu durchspülen, ohne daß man von den Säuredämpfen belästigt wird. Auf den bekannten Kunstgriff beim Flaschenspülen, nämlich die Spülflüssigkeit in den Gefäßen beim Entleeren in drehende Bewegung zu versetzen, um das Auslaufen zu beschleunigen, wurde von neuem hingewiesen.[4]) Glasgeräte, namentlich solche, die mit analytischer Genauigkeit gewogen werden sollen, dürfen nicht mit den Nichtleitern der Elektrizität: Wolle, Seide oder Leder abgerieben werden, da sie dann elektrisch werden und einesteils durch Elektrisierung der Wagschalen die Wägung stören, andernteils Staub aus der Luft anziehen. Leinen oder Baumwolle leiten die Elektrizität besser und sind daher schon eher zum Abputzen von Glasgeräten geeignet.

---

[1]) Vgl. *Rich. Lee*, Die Glashütte. 1910, S. 223; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 286 (1911).

[2]) Vgl. *J. Wenzel*, Eine neue Form von Gaswaschflaschen und Absorptionsapparaten für die Elementaranalyse. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **36**, S. 161 (1903).

[3]) *Ritzmann*, Reinigungsvorrichtung für röhrenförmige Glasapparate. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1204 (1910).

[4]) *H. E. Schaumburg*, Ein Kunstgriff beim Flaschenspülen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 291 (1911).

Auf die Feststellung, daß alle Glassorten und ebenso reiner Quarz sich deutlich als bakterizid erweisen. sei hier nur kurz aufmerksam gemacht.[1])

Um festsitzende eingeschliffene Glasstopfen zu lösen, empfiehlt es sich bekanntlich. den äußeren Schliffteil zu erhitzen.[2]) Bei feuergefährlichem Gefäßinhalt ist es angebracht, zu diesem Zweck nicht die freie Flamme zu benutzen, sondern einen Dampfstrahl gegen den Flaschenhals zu leiten. Prophylaktisch kann man sich gegen das leidige Festsitzen („Anbacken") von Glasstopfen dadurch schützen. daß man die Schliffflächen mit einem gewöhnlichen Bleistift bis zur gleichmäßigen Schwärzung bestreicht, d. h. sie mit Graphit schmiert.[3]) Dieses Schmiermittel hat allgemein vor dem Einfetten die großen Vorzüge. unschmelzbar und hitzebeständig zu sein und sich in organischen Lösungsmitteln nicht zu lösen. Ähnlich verhält sich sirupöse Phosphorsäure und zum Teil auch eine Lösung von Zucker in Glyzerin.[4]) Flaschen, die stark alkalische Lösungen. namentlich Kali- oder Natronlauge enthalten, darf man nicht mit eingeschliffenen Glasstopfen verschließen, da diese infolge der Bildung von Wasserglas nach kurzer Zeit unlösbar festsitzen. Man benutzt am besten in diesen Fällen nur lose passende Glasstopfen, die erst nach dem Überziehen mit einem kurzen Schlauchstück den Flaschenhals luftdicht verschließen. Für Titrationen mit Laugen wählt man aus demselben Grunde Büretten mit Hahnkörpern aus Phosphorbronze oder besser aus Silber, da diese Stoffe in dem Hahngehäuse nicht anbacken.[5]) (Vgl. auch weiter unten S. 672.[6])

Über die „Wasserhaut" auf Glasgefäßen siehe die Ergänzungen zum dritten Kapitel (S. 661).

2. Quarzglas. (Vgl. S. 5—6.)

Zum Unterschied von dem völlig glasklaren, durchsichtigen Quarzglas bezeichnet man zweckmäßigerweise die durch viele kleine Glasbläs-

[1]) *L. Bitter*, Über das Absterben von Bakterien auf den wichtigeren Metallen und Baumaterialien. Zeitschr. Hyg. Bd. **69**, S. 483 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 281 (1912).

[2]) Vgl.: *J. J. Berzelius*, Lehrbuch der Chemie. übersetzt von *F. Wöhler*, 4. Aufl. Bd. **10**, S. 461 (1841).

[3]) Vgl.: *R. Kempf*, Praktische Studien über Vakuumsublimation. Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. 78, S. 207 (1908). — *W. H. Warren*, Die Ermittlung des Gases bei Einschmelzrohrreaktionen. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 1417 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep., S. 521 (1911).

[4]) Siehe z. B.: *H. Ebert*, Anleitung zum Glasblasen. 4. Aufl. 1912, Leipzig (Joh. Ambr. Barth), S. 91 (Fußnote).

[5]) *Lassar-Cohn*, Arbeitsmethoden für organisch-chemische Laboratorien. 4. Aufl., Hamburg und Leipzig (L. Voss). Allg. Teil, S. 305 (1906). — Vgl.: *F. Michel*, Automatische Universalbürette. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 595 (1912).

[6]) Anmerkung: Über Glasblasen unterrichten: *H. Ebert*, Anleitung zum Glasblasen. 4. Aufl., Leipzig 1912, Joh. Ambr. Barth. — *Djakonow* und *Lermantoff*, Die Bearbeitung des Glases. 2. Aufl. (1911); vgl. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 455 (1912).

chen getrübten, zum Teil silbergleich schimmernden Quarzprodukte des Handels als Quarzgut.[1]) Ein völlig blasenfreies Quarzglas herzustellen ist schwierig[2]), weil der Schmelz- und der Siedepunkt des Quarzes nahe beieinander liegen[3]): verlängert man den Schmelzprozeß oder erhitzt man die zähe, teigartige Schmelzmasse auf höhere Temperatur, um die Blasen zu vertreiben, so verdampft dabei ein großer Teil des geschmolzenen Quarzes. Jedoch unterscheidet sich das Quarzgut, abgesehen von seiner Undurchsichtigkeit, in seinen Eigenschaften nicht wesentlich vom Quarzglas.

Bezüglich der Bruchfestigkeit und Elastizität sind Quarz- und Glasgefäße ungefähr gleich. Die Härte des Quarzes ist dagegen größer als die des Glases, nämlich = 7, nach der allgemeinen Härteskala[4]) gerechnet. Man kann daher mit einem Stück geschmolzenen Quarzglases gewöhnliches Fensterglas ritzen und schneiden. Das spezifische Gewicht von Quarzglas beträgt etwa 2·3. Gegen Elektrizität ist Quarzglas ein weit besserer Isolator als gewöhnliches Glas.[5])

Zwei beachtenswerte Eigenheiten zeigt das Quarzglas, worauf besonders aufmerksam gemacht sei: seine verhältnismäßig leicht eintretende Entglasbarkeit und seine Durchlässigkeit für Gase, zwei Mängel, die sich zum Teil wohl gegenseitig bedingen.

Quarz geht bei 575° in eine andere Kristallform über, den sogenannten β-Quarz, und bei Temperaturen über 1000° verwandelt er sich in eine dritte Kristallform, die als Tridymit in der Natur vorkommt. In dieser Form ist Quarz zwischen 1000° und 1600° allein beständig.[6])

Die Umwandlung des amorphen Quarzglases, das eine unterkühlte Schmelze darstellt, in den kristallisierten Tridymit ist durch eine milchige Trübung erkennbar und naturgemäß mit einer erheblichen Lockerung des Gefüges verknüpft, so daß die Bruchfestigkeit des Quarzglases mit fortschreitender Entglasung ganz bedeutend abnimmt.[7]) Ein völlig entglastes

[1]) In Anlehnung an die Bezeichnung Steingut vorgeschlagen von *A. Voelker;* vgl.: Quarzgut und Quarzglas, deren Eigenschaften und Verwendungsarten. Voordracht, gehouden op de Algemeene Vergadering der Nederlandsche Chemische Vereeniging, 21. Juli 1910; Chem. Weekblad. Bd. 7, S. 777 (1910); Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **23**, S. 1857 und 1874 (1010).

[2]) Vgl. z. B.: *J. Bredel,* Verfahren zur Erzeugung von blasenfreier Quarzglasschmelze im Schmelzofen. D. R.-P. 168.574; Chem. Zentralbl. 1906, I, S. 1387. — Derselbe, Verfahren zur Erzeugung von Gegenständen aus geschmolzenem Quarz. D. R.-P. 175.867; Chem. Zentralbl. 1907, I, S. 142.

[3]) Quarzgut schmilzt bei etwa 2100° und verdampft bereits bei etwa 2200° (*A. Voelker,* loc. cit.).

[4]) Siehe z. B.: *Fehling*s Handwörterbuch der Chemie. Bd. **3**, S. 546, Braunschweig 1878.

[5]) *F. Böck,* Einige Neuerungen in der technischen Anwendung der Kieselsäure. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 232 (1911).

[6]) Vgl. z. B.: *Kurt Arndt,* Die Anwendung der physikalischen Chemie in der Industrie feuerfester Erzeugnisse. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 213 (1911).

[7]) Siehe z. B.: *A. Blackie,* Über das Verhalten von geschmolzenem Siliciumdioxyd bei hohen Temperaturen. Chem. News. Vol. **104**, p. 77 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, II, S. 935.

Quarzrohr ist so mürbe, daß man es mit den Fingern zerdrücken kann.[1]) Der Übergang von glasigem Quarz in Tridymitkristalle vollzieht sich im allgemeinen recht träge. Längeres Erhitzen bei 1100—1200° genügt aber bereits, um den Entglasungsvorgang wachzurufen.[2]) Oberhalb 1300° vermehren sich die Tridymitkristalle schon ziemlich rasch und sind unter dem Mikroskop als hexagonale Kristalle erkennbar.

Nach *Matignon*[3]) genügt schon ein halbstündiges Erhitzen von Quarz bei 1300°, um ihn in Pulver zerfallen zu lassen. Ähnliches stellte *Crookes*[4]) fest, als er ein evakuiertes Glasrohr im elektrischen Ofen auf 1300° erhitzte.[5]) Die Geschwindigkeit, mit der Quarzgeräte entglasen, hängt außer von der Temperatur auch von der sie umgebenden Atmosphäre ab. Besonders ungünstig wirkt anscheinend Kohlenoxyd. Quarzgeräte leiden deshalb beim Erhitzen in reduzierenden Flammen mehr als in oxydierenden. Über 1100° sollten daher Quarzgefäße nur in einer oxydierenden Flamme erhitzt werden.

Der Schmelzpunkt des Quarzglases liegt ungefähr bei dem des Platins: bei 1700—1800°, ist aber nicht genau zu bestimmen; merkliches Erweichen tritt schon bei etwa 1500° ein.[6])

Empfindlich ist Quarzglas ferner gegen radioaktive Stoffe, die wohl auch den Entglasungsvorgang beschleunigen. Wird eine Lösung von Radiumbromid in einer Quarzschale eingedampft, so entglast diese.[7]) Quarzgefäße, in denen Polonium aufbewahrt wurde, bekamen sogar an zahlreichen Stellen Risse und Spalten.[8])

Für Gase ist Quarzglas, namentlich bei höheren Temperaturen und in entglastem Zustande, durchaus nicht undurchlässig. Am leichtesten scheint Helium, sodann Wasserstoff durch Quarzglas zu diffundieren. Bereits bei Zimmertemperatur und Atmosphärendruck entwich in einem bestimmten Falle[9]) Helium durch die Wandung eines Quarzgefäßes so rasch, daß der Druck in diesem täglich um 0·4 *mm* abnahm. Wurde das-

[1]) *F. Thomas,* Siloxyd, ein höherwertiger Ersatz des Quarzglases. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 26 (1912).

[2]) *A. Blackie,* loc. cit.

[3]) *Matignon,* Der Schmelzpunkt der Kieselsäure. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 1161 (1911).

[4]) *W. Crookes,* Entglasung von Quarzglas. Proc. Roy. Soc. (A). Vol. **86**, p. 406 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 553 (1912).

[5]) Unter den gleichen Bedingungen zeigte sich ein genau ebensolches Rohr aus gewöhnlichem Glase gasdicht.

[6]) Vgl.: *A. Pohl,* Stand der heutigen Quarzglasverwendung in der Industrie. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 1848 (1912).

[7]) *W. Crookes,* loc. cit. — *St. Meyer* und *V. F. Hess,* Zur Definition der Wiener Radium-Standardpräparate. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 514 (1912).

[8]) Frau *P. Curie* und *A. Debierne,* Über das Polonium. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 205 (1910). — Vgl.: *J. d'Ans,* Jahresbericht über die Fortschritte der experimentellen anorganischen Chemie im Jahre 1910. Ebenda. Bd. **35**, S. 1323 (1911).

[9]) Siehe Zeitschr. f. Instrumentenkunde. 1912, S. 122 (Tätigkeit der Physik.-Techn. Reichsanstalt 1911). — Vgl. auch Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 827 (1911) und Bd. **18**, S. 823 (1912) (Tätigkeit der Physik.-Techn. Reichsanstalt 1910 und 1911).

selbe Quarzgefäß mit Wasserstoff gefüllt, so nahm der Druck nur um 0·03 *mm* pro Tag ab. Nach *Jaquerod* und *Perrot*[1]) verläuft die Diffusion von Helium durch ein Quarzgefäß bei 220° noch sehr langsam, bei 1100° dagegen so rasch, daß nach 6stündigem Erhitzen eines mit Helium gefüllten Quarzgefäßes $^{6}/_{7}$ des Gases verschwunden waren. Nach *Berthelot*[2]) diffundieren bei 1300° Wasserstoff, Stickstoff und Sauerstoff durch Quarz, Kohlendioxyd und Chlorwasserstoff dagegen noch nicht. Die Kieselsäure der Quarzgefäße verhält sich den Gasen gegenüber bis zu einem gewissen Punkte wie eine zur Endosmose und Exosmose befähigte tierische Membran. Über die Durchlässigkeit evakuierter und auf 1300° erhitzter Quarzglasgefäße berichtet auch *Crookes*.[3]) Nach *Belloc*[4]) beginnt die Osmose von Sauerstoff durch Quarzglas bei 600°, wobei sich dieses gleichzeitig infolge der Bildung mikroskopisch kleiner Kerne von Tridymit milchig trübt.

Ebenso wurde festgestellt, daß Neon bei ca. 1000° durch Quarzröhren diffundiert, ferner auch wahrscheinlich Argon.[5])

Setzt man Quarzglas niederen Drucken aus, so entwickelt es etwas Gas, namentlich in der Hitze. Eine Quarzglasröhre von 130 cm^2 innerer Oberfläche lieferte bei 12stündigem Erhitzen auf 800° und bei $2^1/_2$stündigem Erhitzen auf 1040° 2·45 cm^3 Gas, bestehend aus etwas Kohlendioxyd und gleichen Volumen Wasserstoff und Kohlenoxyd.[6]) Glas- und Porzellanröhren verhalten sich, wie erwähnt, ähnlich (vgl. oben, S. 630).

Über die Einwirkung von Flüssigkeiten auf Quarzglas sei das Folgende nachgetragen.[7]) Wasser greift das Material nicht merklich an, selbst nicht bei längerer Einwirkungsdauer in der Hitze.[8]) Alkalische Flüssig-

[1]) *A. Jaquerod* und *F. L. Perrot*, Über die Anwendung des Heliums als thermometrische Substanz und seine Diffusion durch Quarz. Compt. rend. T. **139**, p. 789 (1904); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 8.

[2]) *Berthelot*, Permeabilität von Röhren aus geschmolzenem Quarz. Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. **140**, p. 1159 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 1578. — Vgl.: Derselbe, Über die Gefäße aus geschmolzenem Quarz. Ihre Durchlässigkeit. Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. **140**, p. 821 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 1201 und: Derselbe, Anwendung der heißen und kalten Röhre beim Studium chemischer Reaktionen. Compt. rend. T. **140**, p. 905; Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 1354.

[3]) *W. Crookes*, Entglasung von Quarzglas. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 553 (1912). — Vgl. auch: Derselbe, Durchlässigkeit glasiger Stoffe für Gase. I. Gläser aus Kieselsäure oder geschmolzenem Quarz, ihre Anwendung in der Chemie und ihre Permeabilität. Ann. Chim. Phys. [8], T. **6**, p. 164 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, II, S. 1305.

[4]) *G. Belloc*, Osmose durch Quarzröhren. Compt. rend. Vol. **140**, p. 1253; Chem. Zentralbl. 1905, II, S. 1.

[5]) *O. W. Richardson* und *R. C. Ditto*, Abhandlung über die Diffusion des Neons durch heißen Quarz. Philos. Magazine. [6], Vol. **22**, p. 704 (1911); Chem. Zentralbl. 1912, I, S. 203.

[6]) *M. Guichard*, Über die sich aus den Wandungen der Glas-, Porzellan- und Quarzglasröhren entwickelnden Gase. Compt. rend. T. **152**, p. 876 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, I, S. 1659.

[7]) Vgl.: *F. Mylius* und *A. Meusser*, Anwendbarkeit von Quarzgeräten im Laboratorium. Zeitschr. f. anorg. Chem. Bd. **44**, S. 221 (1905).

[8]) Vgl. aber: *M. Traube-Mengarini* und *A. Scala*, Versuche über kolloide Auflösung von Edelmetallen durch kochendes destilliertes Wasser. Zeitschr. Ind. Chem. Ind. Koll. Bd. **6**, S. 65 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 218 (1910).

keiten, wie Kali- und Natronlauge, wässeriges Ammoniak usw. greifen es namentlich in der Hitze stark an; mit Barytwasser bildeten sich nach 6monatigem Stehen Kristalle von Baryumsilikat. Verdünnte Säuren, mit Ausnahme von Flußsäure, wirken auch bei 100° nicht auf Quarzglas ein. Phosphorsäure greift es bei 18° noch nicht merklich an; beim Erhitzen auf 400° erfolgt aber Korrosion unter Abscheidung von Silizylphosphat. Setzt man Quarzgefäße längere Zeit einer freien Flamme aus, so wird die Quarzoberfläche korrodiert (vgl. oben).

Bei hoher Temperatur ist Quarzglas auch gegen gewisse metallische Oxyde (Kupfer-, Bleioxyd) empfindlich.[1])

Man kann Quarzglasgefäße, wenn sie nicht durchsichtig zu sein brauchen, dadurch vor chemischen Angriffen schützen, daß man sie im Innern galvanisch oder nach dem *Schoop*schen Spritzverfahren[2]) mit einer Edelmetallschicht überzieht.[3])

Quarz- und Glasröhren lassen sich durch Schliffe (nötigenfalls mit Quecksilberdichtung) verbinden, da es möglich ist, ein Quarzrohr in ein Glasrohr einzuschleifen und umgekehrt.[4])

Die Oberfläche der Quarzgefäße wirkt bakterizid (vgl. oben, S. 633).

Über die Handhabung und Verarbeitung von Quarzgeräten im Laboratorium hat *Berthelot*[5]) wertvolle Angaben gemacht, auf die aber hier nicht näher eingegangen werden kann. Nach *Milbauer*[6]) lassen sich Quarzrohre (und ebenso Porzellanrohre) mit Hilfe von wässeriger Fluorwasserstoffsäure in bequemer Weise zerschneiden.

Ebenso wie Silikatglas gelingt es auch Quarzglas zu feinen Fäden (Quarzwolle) zu verarbeiten.[7])

Für Chemikalien, die durch den Alkaligehalt des gewöhnlichen Glases leicht angegriffen werden (vgl. oben, S. 627), wurden Flaschen aus Quarzgut vorgeschlagen. Für pharmazeutische Präparate, die namentlich in heißen Gegenden durch das Alkali des Glases so zersetzt werden können, daß sie

[1]) Vgl.: *A. Pohl,* Stand der heutigen Quarzglasverwendung in der Industrie. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 1854 (1912).

[2]) *M. U. Schoop*, Die Herstellung von Metallüberzügen nach dem *Schoop*schen Spritzverfahren. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 477 (1911). — Vgl. auch: Derselbe, Die Verzinkung nach dem *Schoop*schen Metallspritzverfahren. Ebenda. S. 1434.

[3]) Vgl.: *A. Voelker*, l. c.; Chem. Weekblad. Vol. **7**, p. 787 (1910).

[4]) *J. Elster* und *H. Geitel*, Anschluß von Rezipienten aus Quarzglas an die Quecksilberluftpumpe. Physikal. Zeitschr. Bd. **5**. S. 33 (1903); Chem. Zentralbl. 1904. I. S. 417.

[5]) *Berthelot,* Über die Gefäße aus geschmolzenem Quarz. Ihre Anwendung in der Chemie. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **140**, p. 817 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 1201.

[6]) *J. Milbauer,* Zerschneiden von Röhren durch Ätzen. Chem-Ztg. Bd. **35**, S. 669 (1901).

[7]) Vgl. z. B.: *J. Bredel,* Verfahren zur Herstellung von Gegenständen aus Quarzglas. D. R.-P. 159.361; Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 1062. — *Voelker & Co.,* G. m. b. H., Beuel b. Bonn, Herstellung von Quarzgespinstfäden. D. R.-P. 245.908; Chem.-Ztg. Bd. **36**. Rep. S. 321.

therapeutisch unter Umständen völlig wirkungslos werden, ja schädlich wirken können, ist dieser Vorschlag besonders beachtenswert.[1])

Quarzkolben erwiesen sich wegen ihrer Durchlässigkeit für die ultravioletten Strahlen besonders für das Studium biochemischer Reaktionen im Licht als sehr geeignet.[2])

Es ist klar, daß Quarzglas auch namentlich bei allen genaueren analytischen Arbeiten dem gewöhnlichen Glase oft weit vorzuziehen ist.[3])

Fleckige Quarzgefäße reinigt man durch Schmelzen von Kalibisulfat in ihnen.[4])

3. **Siloxyd** (Zirkon- und Titanglas).

Die im vorstehenden angeführten Mängel des Quarzglases sollen ganz oder teilweise einem neuen Material fehlen: dem von *F. Wolf-Burckhardt* erfundenen und durch die Zirkongesellschaft in Frankfurt a. M. vertriebenen Siloxyd. Dieses Produkt ist im wesentlichen geschmolzener Quarz, der einen Zusatz schwer schmelzbarer saurer Oxyde, wie Zirkon- oder Titanoxyd, erhalten hat.[5]) Diese Zirkon- und Titangläser (Siloxyd Z und Siloxyd T) weisen eine größere mechanische Festigkeit auf als Quarzglas und entglasen ferner schwerer. Im übrigen haben sie alle Vorzüge des Quarzglases unverändert behalten, so z. B. den geringen Ausdehnungskoeffizienten ($= 0{,}000000{\cdot}59 = {}^1/_{17}$ desjenigen von Platin). Ein Stab von Siloxydglas von einem Meter Länge nimmt daher bei der Erwärmung von 0° auf 1000° nur um etwa 0·5 *mm* an Länge zu.

4. **Zirkonoxyd** (ZrO_2).

Geschmolzenes und glasig erstarrtes Zirkonoxyd zeigt ganz ähnlich wie Quarzglas eine außerordentliche Widerstandsfähigkeit gegen Hitze und chemische Einflüsse, sowie gegen schroffen Temperaturwechsel.[6]) Es eignet sich daher ausgezeichnet zur Herstellung von Laboratoriumsgeräten[7]) und hat sich in dieser Verwendung bereits sehr gut bewährt.[8])

---

[1]) Vgl.: Quarzgutfabrikate. Die Glashütte. 1910, S. 331; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 286 (1911).

[2]) Vgl. z. B.: *H. Euler*, Über biochemische Reaktionen im Licht. Archiv för Kemi, Mineralogi och Geologi. Bd. **4**, S. 1 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 152 (1912).

[3]) Siehe z. B.: *E. Wilke*, Über die Entwicklung der analytischen Chemie. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 627 (1911). — *M. Dennstedt*, Neue Erfahrungen bei der vereinfachten Elementaranalyse. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **41**, S. 604 (1908).

[4]) Vgl.: *A. Pohl*, l. c.

[5]) Vgl. im übrigen: *F. Thomas*, Siloxyd, ein höherwertiger Ersatz des Quarzglases. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 25 (1912). — Siehe ferner: *J. Koenigsberger*, Über die kritische Temperatur des Quecksilbers, ebenda, S. 1321. — Vgl. dagegen aber auch: *A. Pohl*, Stand der heutigen Quarzglasverwendung in der Industrie. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 1849 (1912).

[6]) Vgl. z. B.: *R. J. Meyer*, Die neueste Entwicklung unserer Kenntnisse von den seltenen Erden. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **17**, S. 639 (1911).

[7]) Röhren, Tiegel, Dreiecke usw. aus Zirkonoxyd werden von der Allgemeinen Elektrizitäts-Gesellschaft-Berlin in den Handel gebracht.

[8]) Vgl. z. B.: *E. Wedekind*, Magnetochemische Untersuchungen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. **40**, S. 1266 (1907). — Derselbe, Die Magnetisierbarkeit magnetischer

Der lineare Ausdehnungskoeffizient des reinen Zirkonoxyds beträgt 0·00000084 [1]), ein Wert, der dem von *Le Chatelier* für geschmolzenen Quarz ermittelten (0·0000007) sehr nahe kommt und wesentlich kleiner ist als der des gewöhnlichen Glases (0·00002) und des Porzellans (0·000005; vgl. S. 640).

Infolge seines außerordentlich hohen Schmelzpunkts bietet reines Zirkonoxyd bei der Verarbeitung zu Laboratoriumsgeräten heute noch unüberwindliche Schwierigkeiten. Man ist genötigt, dem Zirkonoxyd Magnesium-, Alkali-oxyde od. dgl. hinzuzusetzen, um es leichter schmelzbar zu machen. In so hergestellten Zirkontiegeln gelingt es ohne Schwierigkeit, mit Hilfe eines guten Knallgasgebläses Platin zu einer leicht beweglichen Flüssigkeit zusammenzuschmelzen [2]), ferner Bergkristall in geschmolzenes Quarzglas überzuführen. [3])

Nach einem anderen hier nicht näher zu erläuternden Verfahren, Gefäße aus Zirkonerde herzustellen, erhält man Tiegel, die Temperaturen von 2300° aushalten, ohne Schmelzerscheinungen zu zeigen. [4])

5. **Alundum** (Tonerde, Al_2O_3).

Die ursprünglich als Schleif- und Poliermittel im elektrischen Ofen aus Bauxit dargestellte geschmolzene Tonerde, die mit Alundum [5]) bezeichnet wird, eignet sich auch als feuerfestes Material zur Anfertigung von Tiegeln, Muffeln, Verbrennungsschiffchen u. dgl.

Es wird in zwei Qualitäten hergestellt [6]): weißes Alundum, zu mehr als 99% aus reinem Al_2O_3 bestehend, und ein rotbraunes Produkt, das ca. 6—8% Verunreinigungen enthält. Das weiße Material schmilzt erst bei 2050—2100°; sein Wärmeleitungsvermögen ist etwa 2mal so groß als

Verbindungen aus unmagnetischen Elementen. Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. **66**, S. 622 (1909).

[1]) *L. Weiß* (und *R. Lehmann*), Untersuchungen über natürliches Zirkondioxyd. Zeitschr. f. anorg. Chemie. Bd. **65**, S. 218 (1910).

[2]) Siehe *Weiß*, l. c.

[3]) Vgl.: *W. C. Heräus*, Verfahren zum Erschmelzen von Quarzglas aus Bergkristall u. dgl. D. R.-P. 179.570; Chem. Zentralbl. 1907, II, S. 1473: Gefäße aus Zirkonoxyd oder Thorerde sollen an die Stelle von Iridiumgefäßen treten.

[4]) *R. Bayer*, Darstellung von Gefäßen aus Zirkonerde. Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. **23**, S. 485 (1910); vgl. auch: *W. Nernst*, Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **16**, S. 676 (1910).

[5]) Geliefert von der Firma *Norton Company* in Worcester, Mass.; siehe z. B.: Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 437 (1911) und Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 895 (1911).

[6]) *L. E. Saunders*, Die Verwendung von Alundum. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 678 (1911) und Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 450 (1911). — *P. A. Boeck*, Alundumrefraktoren und Laboratoriumsapparate aus Alundum. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 1008 (1911). — Vgl. auch: Feuerfeste Gegenstände aus Alundum. Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 353 (1911) und: *R. Schwarz*, Alundum. Ebenda. S. 360. — Siehe auch z. B.: *R. Winne* und *C. Dantziger*, Zwei einfache elektrische Öfen für Laboratoriumsarbeiten. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 1437 (1911). — *F. A. J. Fitzgerald*, Feuerfestes Material. Metall. and Chem. Eng. Vol. **10**, p. 129 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 447 (1912). — *E. B. Forbes*, Alundum bleibt nicht in Gewichtskonstanz. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 4, p. 544 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 565 (1912).

das von *Marquardt*-Porzellan, und seine Härte liegt zwischen 9 und 10, erreicht also fast die des Diamanten. Beide Sorten werden von verdünnten Säuren, Alkalien und geschmolzenen Alkalikarbonaten nur wenig angegriffen. Der Wärmeausdehnungskoeffizient des Alundums ist sehr klein, er beträgt etwa 0·0000007; die mechanische Festigkeit des Materials ist groß. Je nach seiner Verwendungsart kann es fast undurchdringlich und hoch porös hergestellt werden. Im letzteren Fall kann es z. B. in Tiegelform direkt zum Filtrieren ähnlich wie Goochtiegel benutzt werden. [1]) Ganz gasdicht läßt sich Alundum bis jetzt nicht herstellen.

6. Porzellan. (Vgl. S. 6—7.)

Der lineare Ausdehnungskoeffizient des Porzellans wurde zu 0·000005357 ermittelt. [2])

Auch über die Gasdurchlässigkeit von Porzellan bei höheren Temperaturen liegen Angaben vor. [3])

7. Platin. (Vgl. S. 7—9.)

Um dem reinen Platin eine größere Härte zu geben, kann man ihm an Stelle von Iridium mit noch besserer Wirkung Osmium zusetzen (1—20%). [4])

Für quantitative Veraschungen im Tiegel ist ein neuer mit Löchern versehener „Veraschungsdeckel aus Platin zur Herbeiführung eines Luftstroms im Innern des Tiegels“ konstruiert worden. [5])

Um Platinspateln eine praktische Fassung zu geben, befestigt man sie mit Vorteil in einem porösen Porzellan- oder Tonrohr mit Hilfe geschmolzenen Glases. [6])

Beim Kochen von destilliertem Wasser in Platingefäßen soll Platin spurenweise kolloidal in Lösung gehen. [7])

[1]) Siehe ferner: *C. Benner* und *H. Roß*, Filtration durch Alundumplatten. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **34**. p. 51 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 233 (1912). — *P. A. Boeck*, Bemerkungen über eine neue Art eines Extraktionsgefäßes. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **4**. p. 303 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 353 (1912).

[2]) *A. S. Watts*, 1. Der lineare Ausdehnungskoeffizient des Porzellans. 2. Vergleich zwischen Kali- und Natronporzellan. Sprechsaal. S. 232 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **35**. Rep. S. **104** (1911).

[3]) Vgl.: *H. Bollenbach*, Die Fortschritte der Feinkeramik im Jahre 1910. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 653 (1911).

[4]) *W. C. Heräus*, Harte und elastische Platinlegierungen für die Herstellung wissenschaftlicher und technischer Gebrauchsgegenstände. D. R.-P. 239.704. Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 572 (1911).

[5]) Vgl.: *A. Gutbier*, Der neue Veraschungsdeckel von *W. C. Heräus*. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 211 (1910).

[6]) *F. Friedrichs*, Eine praktische Fassung für Platinspatel. Chem.-Ztg. Bd. **22**, S. 917 (1898).

[7]) *M. Traube-Mengarini* und *A. Scala*, Versuche über kolloide Auflösung von Edelmetallen durch kochendes destilliertes Wasser. Zeitschr. f. Chem. Ind. Koll. Bd. **6**. S. 65 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 218 (1910).

Mit Gold gelötete Platingefäße halten nachher keine starke Hitze mehr aus, weil dann das Gold schmilzt, in das Platin einzieht und den Riß wieder offen läßt. Besser ist es, das Loch oder den Riß mehrere Male mit einem aus Platinpulver und Terpentinöl gemachten Firnis zu überstreichen, die verschiedenen Überzüge völlig trocknen zu lassen und die Stelle sodann abwechselnd im Gebläse zu erhitzen und zu hämmern.[1])

Ein eigentümlicher Vorschlag, Platintiegel von angesetzter, eingebrannter Kohlenasche zu reinigen, besteht darin, daß man flüssiges Pech darin abraucht und glüht.[2])

Zu den Chemikalien, die Platin angreifen, ist noch nachzutragen, daß auch geschmolzener Borax Platingeräte schädigt[3]), und daß besonders rhodiumhaltiges Platin durch die Flammengase beim Erhitzen stark korrodiert wird.[4])

Über die Flüchtigkeit der Metalle der Platingruppe liegen interessante Angaben von *Crookes*[5]) vor: Ein im elektrischen Ofen 30 Stunden lang auf 1300° erhitzter Platintiegel verlor 0·245% an Gewicht; ein Palladiumtiegel unter den gleichen Bedingungen 0·745%. Dagegen wies ein Platintiegel nach 20stündigem Erhitzen über dem Mékerbrenner (siehe S. 689 und Fig. 238, S. 687) keinen Gewichtsverlust auf, während Palladium bereits in 10 Stunden 0·0919% an Gewicht verlor. Aus diesen Versuchen erklärt sich die Tatsache, daß man beim dauernden Glühen eines Platintiegels in einer Leuchtgasgebläseflamme fortgesetzt Gewichtsabnahmen feststellt. Bei quantitativen Arbeiten, die ein längeres heftiges Glühen der Substanz erfordern, empfiehlt es sich daher, den Platintiegel nach Beendigung des Versuchs noch einmal leer zurück zu wägen.

Bei den heute so hohen Platinpreisen ist es nicht verwunderlich, daß eine große Reihe Ersatzmittel für das kostspielige Metall vorgeschlagen wurden. So fertigt z. B. *Heräus* jetzt Tiegel und Schalen aus reinem Golde mit 10% Platinzusatz an, wodurch die Preise um die Hälfte niedriger werden. Jedoch schmilzt diese Legierung bereits bei 1080°. Platindraht-Dreiecke, Tiegelzangen u. dgl. lassen sich durch entsprechende Geräte aus einer Legierung von 80% Nickel, 18% Chrom und 2% Alu-

[1]) *J. J. Berzelius*, Lehrb. d. Chem. Übersetzt von *F. Wöhler*. Bd. **10**, S. 517 (1841).

[2]) *A. Jabs*, Reinigen von mit Knochenasche angesetzten Platinschalen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 422 (1912).

[3]) *J. G. Rose*, Das Vorkommen von Platinmetallen in für Probierzwecke verwendeten Chemikalien. Chem. News. Vol. **98**, p. 104 (1908); Chem.-Ztg. Bd. **32**, Rep. S. 537 (1908). — *E. G. Bryant*, Platin im sogenannten reinen Borax. Chem. News. Vol. **98**, p. 210 (1908); Chem.-Ztg. Bd. **32**, Rep. S. 645 (1908). — *J. G. Rose*, Platin im Borax. Eng. and Min. Journ. Vol. **87**, p. 1232 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 389 (1909).

[4]) Die Verschärfung und Verbesserung der analytischen Methoden. Denkschrift der Phys.-Techn. Reichsanstalt für den Reichstag 1912; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 349 (1912).

[5]) *W. Crookes*, Die Flüchtigkeit der Metalle der Platingruppe. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 553 (1912) und Proc. Royal Soc., London, Serie A, Vol. 86, p. 461 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 232.

minium ersetzen.[1]) Das ähnlich zusammengesetzte „Stellit", eine Chrom-Kobalt-Nickellegierung, dürfte ebenfalls für manche Zwecke ein brauchbares Material für chemische Geräte abgeben.[2])

Speziell für Lötrohrproben mit der Phosphorsalz- oder Boraxperle kann man an Stelle des Platindrahtes mit Vorteil ein 3—5 *mm* dickes Glasstäbchen aus gewöhnlichem, leicht schmelzbarem Glase benutzen, indem man es an dem einen Ende heiß in ein inniges Gemisch von Boraxpulver (2 Teile) und Bleiglätte (1 Teil) eintaucht und die Masse zu einem Bleiboratglas verschmilzt.[3]) Zu ähnlichen Zwecken sind auch Magnesiastäbchen[4]) von 1 *mm* Stärke sehr gut geeignet oder Asbeststäbchen[5]), die man sich bereitet durch Tränken von Asbest mit etwa 50%iger Phosphorsäure, Erhitzen im Bunsenbrenner, Rollen des noch biegsamen Produkts in Stäbchen von 2—3 *mm* Durchmesser und Glühen im Gebläse zu einer porzellanähnlichen Masse.

8. **Iridium.** (Vgl. S. 9.)

Weitere günstige Urteile über Iridiumtiegel bestätigen deren Brauchbarkeit selbst bei Temperaturen über 2000°.[6])

Der Schmelzpunkt von reinem Iridium wurde bei 2210—2225° gefunden.[7]) Das spezifische Gewicht des Elementes beträgt 22·4. Es ist nächst dem Osmium das schwerste Metall, das man kennt.

Für quantitative Arbeiten ist es wichtig, zu wissen, daß Iridium bei hohen Temperaturen noch flüchtiger ist als Platin (vgl. oben S. 641). Ein im elektrischen Ofen auf 1300° erhitzter Iridiumtiegel verlor in 22 Stunden etwa 7% seines Gewichtes. Bei der Temperatur eines Mékerbrenners (vgl. unten S. 689 u. Fig. 238, S. 687) wies Iridium nach 20 Stunden einen Gewichtsverlust von 0·091% auf. Bei 30stündigem Erhitzen von Iridium

[1]) *A. L. Marsh* und *Hoskin*, Manufacturing Comp., Detroit (Mich.), Laboratoriumsgeräte. U. St. Amer. Pat. 1.012.391; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 233 (1912).

[2]) *E. Haynes*, Über Stellit, eine Chrom-Kobalt-Nickellegierung. Scient. Amer. Vol. **70**, p. 325 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 128 (1911). — Vgl.: Derselbe, Legierungen von Nickel und Kobalt mit Chrom. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 2, p. 397 (1910) und Chem. Eng. Vol. **12**, p. 85 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 592 u. 612 (1910).

[3]) *L. Kopa* und *B. König*, Lötrohrperlen ohne Platindraht. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 256 (1910).

[4]) *E. Wedekind*, Über die Verwendung von Magnesiastäbchen an Stelle von Platindrähten bei analytischen Arbeiten. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **45**, S. 382 (1912). — Die Stäbchen können von der Vereinigten Magnesia-Co. und *E. Hildebrandt* A.-G. in Berlin-Pankow bezogen werden.

[5]) *O. F. Kirby*, Ersatz für Platindraht in der qualitativen Analyse. Chem. News. Vol. **101**, p. 170 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 233 (1910).

[6]) *W. Nernst*, Zeitschr. f. Elektochem. Bd. **16**, S. 667 (1910). — Derselbe, Neuere Probleme der Wärmelehre. Sitz. der Kgl. preuß. Akad. d. Wiss.; Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 132 (1911) und Chem. Zentralbl. 1911, I, S. 960.

[7]) *O. Ruff*, Über einen elektrischen Vakuumofen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 1571 (1910).

in einem evakuierten Quarzrohr auf 1300° erhält man ein schwarzes Sublimat von metallischem Iridium.[1])

9. Wolfram.

Wolfram zeichnet sich ebenfalls durch ein sehr hohes spezifisches Gewicht aus: es beträgt 19·3—20·2, ist also um 70% höher als das des Bleies (spez. Gew.: 11·34). Das Element ist praktisch unlöslich in allen gewöhnlichen Säuren (Schwefelsäure, Salpetersäure, Flußsäure), ferner in Kali- und Natronlauge, schmilzt erst bei 3177° und läßt sich dünner ausziehen als jedes andere Metall. Es kann so hart hergestellt werden, daß es Glas ritzt und doch noch dehnbar bleibt. In einer Mischung von Flußsäure und Salpetersäure, ferner in geschmolzenen Nitraten und Peroxyden ist Wolfram löslich.[2])

10. Tantal.

Tantal ist ein grauweißes, glänzendes Metall, das *v. Bolton* im Jahre 1903 zum erstenmal in chemisch reiner Form darstellte. Das Element schmilzt erst bei 2770°, läßt sich zu den feinsten Drähten ausziehen und wird von Säuren nicht angegriffen. Dem viel teureren Platin-Iridium ist es an Härte und Elastizität überlegen. Sein spezifisches Gewicht liegt bei 16·6. Das Metall eignet sich u. a. zur Anfertigung von unveränderlichen Gewichten und von Kochschalen für chemische Zwecke.[3])

11. Einige weniger edle Metalle. (Vgl. S. 9—10.)

a) Nickel.

Die gewöhnlichen Nickeltiegel werden beim Gebrauch zu Kalischmelzen im allgemeinen so schnell zerstört, daß sie selten mehr als 8 Kalischmelzen aushalten; es empfiehlt sich daher, für diesen Zweck Tiegel mit verstärktem Boden zu benutzen.[4])

b) Silber.

„Silbertiegel vertragen keine Säuren; sie werden wie die Platintiegel mit Sand rein gescheuert. Das Silber kristallisiert leicht, wenn es lange glühend erhalten wird; die Oberfläche des Tiegels wird dann auf den kristallisierten Stellen höckerig und spröde, was jedoch durch Hämmern wieder zu verbessern ist."[5])

---

[1]) *W. Crookes,* Die Flüchtigkeit der Metalle der Platingruppe. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 553 (1912).

[2]) Siehe im übrigen: *C. G. Fink-Harrison,* Neue Anwendungen von duktilem Wolfram. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1144 (1912) und Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **18**, S. 898 (1912). — *O. Ruff,* Über die Darstellung streckbaren Wolframs. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. 25, S. 1889 (1912).

[3]) Siehe im übrigen: *M. v. Pirani,* Das Tantalmetall und seine Verwendung in Industrie und Wissenschaft. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1096 (1912). — *O. Brunck,* Tantalelektroden. Ebenda S. 1233. — *Siemens & Halske*, Das Tantalmetall und seine Verwertung in Industrie und Wissenschaft; vgl.: Deutsche Mechaniker-Ztg. 1912, S. 213.

[4]) Vgl.: *R. Berg,* Ein Wort zur Nährsalzfrage. Bestimmung der Aschenbestandteile der Nahrungsmittel. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 523, Fußnote 10 (1912).

[5]) *J. J. Berzelius,* Lehrbuch der Chemie, übersetzt von *F. Wöhler*. 4. Aufl. (1841). Bd. **10**, S. 518.

Der Anwendung von silbernen Hahnküken an Büretten bei Titrationen mit Laugen ist schon oben Erwähnung getan (S. 633).

c) Kupfer.

Beim längeren Kochen von destilliertem Wasser in Kupfergefäßen geht Kupfer in nicht ganz unbeträchtlichen Mengen in Lösung.[1]

d) Aluminium.

Apparate aus Reinaluminum stellt die Firma *W. C. Heräus*-Hanau nach eigenem patentierten Schweißverfahren her. Geräte aus diesem Material sind widerstandsfähig gegen trockene und feuchte Luft, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, viele organische Säuren, Frucht-, Fett- und Pflanzensäuren. Ranzige Fette dürfen jedoch nicht in Aluminiumgefäßen verarbeitet werden, da flüchtige Fettsäuren das Metall zerstören. Auch von Salpeter- und Schwefelsäure, sonderlich in verdünntem Zustande, wird es angegriffen, und ferner zerstören es alkalische Flüssigkeiten rasch. Gegen nitrose Dämpfe ist es dagegen sehr widerstandsfähig.

Nahtlos gezogene Röhren aus Aluminium eignen sich wegen ihres vorzüglichen Wärmeleitungsvermögens besser als Glasröhren für Kühlschlangen.[2]

Obwohl Aluminium bei 656° schmilzt, lassen sich doch dünne Aluminiumdrähte elektrisch bis auf 1600° erhitzen, ohne zunächst zu zerreißen. Der Grund für die auffällige Erscheinung liegt darin, daß die dünne Oxydhaut, die das der Luft ausgesetzte Metall überzieht, wie ein Sack das geschmolzene Metall umhüllt und es am Zusammenfließen hindert.[3]

Sehr unrein ist das käufliche Aluminiumpulver. Es enthält außer Silizium, Eisen usw. über 5% Aluminiumoxyd (Al_2O_3).[4]

Zum autogenen Schweißen von Aluminium, also zum Löten ohne Anwendung eines anderen Metalls, wurde als Flußmittel ein Gemisch von 60 Teilen KCl, 12 Teilen NaCl, 4 Teilen $KHSO_4$ und 20 Teilen LiCl vorgeschlagen.[5] Auch ein Aluminiumlot wurde angegeben.[6]

---

[1] *M. Traube-Mengarini* und *A. Scala,* Versuche über kolloide Auflösung von Edelmetallen durch kochendes destilliertes Wasser. Zeitschr. Chem. Ind. Koll. Bd. **6**, S. 65 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 218 (1910).

[2] *H. Mastbaum,* Aluminiumgeräte in der Laboratoriumspraxis. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1319 (1910).

[3] *W. v. Bolton,* Ein Überhitzungsphänomen beim Aluminium. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **14**, S. 766 (1908); Chem. Zentralbl. 1909, I, S. 130.

[4] *E. Kohn-Abrest,* Untersuchungen über das Aluminium. Analyse des Aluminiumpulvers. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **147**, p. 1293 (1908); Chem. Zentralbl. 1909, I, S. 344 und: *A. Stock,* Die experimentellen Ergebnisse anorganisch-chemischer Forschung im Jahre 1909. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 122 (1910).

[5] *M. U. Schoop,* Die autogene Schweißung von Aluminium. Chem.-Ztg. Bd. **31**, S. 749 (1907) und: Derselbe, Löten von Aluminium ohne Anwendung eines anderen Metalls. L'Électricien. [2], T. 38, p. 350 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 48 (1910).

[6] *J. Silver,* Aluminiumlot. Ver. St. Amer. Pat. 968.203; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 592 (1910).

Aluminiumschalen von 0·6 *mm* Wandstärke, die innen mit einem ganz dünnen Kupferblech plattiert worden waren, bewährten sich gut an Stelle von Platinschalen, z. B. zur quantitativen elektrolytischen Bestimmung verschiedener Metalle.[1])

Nachgetragen sei ferner das spezifische Gewicht des Aluminiums. Es beträgt nur 2·6.

Aluminiumoxyd (Alundum) ist schon oben erwähnt worden (S. 639).

Betreffs der Okklusion von Wasserstoff durch Aluminium sei auf die Literatur[2]) verwiesen.

e) Eisen.

Die Tatsache, daß Quecksilber unter Anwendung großer Drucke durch 2 Fuß dicke Stahlpanzerplatten getrieben werden kann[3]), dürfte wegen der daraus ableitbaren Schlußfolgerung, daß es beinahe gar keine absolut undurchlässigen festen Stoffe gibt, von Interesse sein. —

Aus Eisenoxyd gegossene Gefäße sind widerstandsfähig gegen Säuren und Alkalien und zeichnen sich durch große Hitzebeständigkeit aus.[4])

12. Gefäßmaterial für sehr hohe Temperaturen. (Vgl. S. 10.)

Neben den bisher schon behandelten hoch hitzebeständigen Materialien sei noch auf die Graphittiegel hingewiesen, die sich gut bewährt haben.[5])

Nach *Seger* und *Cramer* sind solche Materialien als feuerfest zu bezeichnen, deren Schmelzpunkt mindestens bei Segerkegel 26 (siehe unten, S. 707) liegt, also über etwa 1600°. Die üblichen feuerfesten Massen schmelzen nach *W. C. Heräus* meist gegen 1700°, erweichen aber bereits viel eher.[6])

Über die Eigenschaften von elektrisch geglühter Magnesia und geschmolzenem Kalk als feuerfeste Materialien siehe die Literatur.[7])

---

[1]) *J. Formánek* und *F. Peč,* Über die Verwendung der Aluminiumschale und einiger anderer Vorrichtungen zur quantitativen Elektroanalyse. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1282 (1909).

[2]) *B. Delachanal,* Untersuchungen über die in einigen gebräuchlichen Metallen enthaltenen okkludierten Gase. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **148**, p. 561 (1909); Chem.-Zentralbl. 1909, I, S. 1225.

[3]) *M. U. Schoop,* Die Verzinkung nach dem *Schoop*schen Metallspritzverfahren. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1434 (1911).

[4]) *W Günther,* Gegen chemische Einflüsse widerstandsfähige Gefäße aus reinen Eisenoxyden. D. R.-P. 237.736; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 522 (1911).

[5]) Vgl.: *Rupprecht*, Graphit-Schmelztiegel. Techn. Rundschau. 1909, S. 550; Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 591 (1909); — *A. Haenig,* Die Verwendung von Graphit für die Herstellung von Schmelztiegeln. The Brass World. Vol. **7**, p. 307 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 29 (1912).

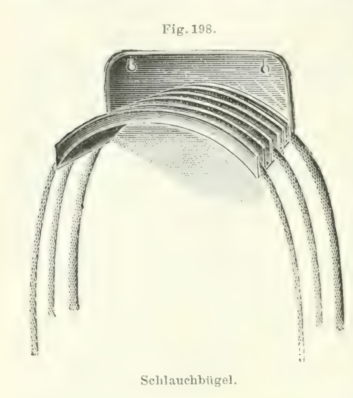
[6]) Vgl.: *K. Arndt,* Die Anwendung der physikalischen Chemie in der Industrie feuerfester Erzeugnisse. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 213 (1911). — Siehe ferner: *C. W. Kanolt,* Der Schmelzpunkt von feuerfesten Ziegeln. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1192 (1912).

[7]) Siehe z. B.: *F. A. J. Fitzgerald,* Feuerfestes Material. Metall. and Chem. Eng. Vol. **10**, p. 129 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 447 (1912). — *Baraduc-Muller,* Die feuerfesten Erzeugnisse, Tonind.-Ztg. 1911, S. 793; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 395.

13. Kautschuk. (Vgl. S. 10—11.)

Über die beste Aufbewahrungsart von Kautschukgeräten sind von vielen Seiten Untersuchungen angestellt worden. Kautschukschläuche halten sich nach *Saussailow* und *Pelitschenko*[1]) am besten unter destilliertem Wasser, wie eine 15monatige Versuchsreihe bewies. Dasselbe Versuchsergebnis wurde von anderer Seite erhalten.[2])

Fig. 198.



Schlauchbügel.

Daß die strahlende Energie, und zwar wohl hauptsächlich die ultravioletten Strahlen, auf Kautschukartikel ungünstig einwirken, ist ebenfalls vielfach bestätigt worden.[3]) Man muß hierbei Oxydationsvorgänge[4]), wahrscheinlich infolge von Ozonbildung, annehmen. Zur Lagerung von Patentgummiwaren sollen sich kühle, trockene Kellerräume, deren Temperatur aber nicht unter 0° sinken darf, und die gut durchgelüftet werden können, am besten eignen.[5]) Kautschukschläuche legt man, um das Einknicken zu verhindern, über sogenannte Schlauchbügel: halbkreisförmig gebogene Holz-, Blech- oder Hartgummirinnen[6]) (Fig. 198), und sorgt dafür, daß sie sich gegenseitig nicht berühren.[7])

Nach den für Militärlazarette ausgegebenen Vorschriften bewahrt man Gummiwaren am besten in einem gegen Luft abgedichteten und mit Zinkblech ausgeschlagenen Schrank in ständig feucht gehaltener Luft bei

---

[1]) *M. Saussailow* und *E. Pelitschenko*, Über die Aufbewahrung von Gummischläuchen. Journ. obschtsch. gigieni. Bd. **45**, S. 1695 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**. Rep. S. 172 (1910). — Vgl. ferner: *Mareck*, Aufbewahrung der Kautschukschläuche unter Wasser. Dingl. Polytechn. Journ. Bd. **239**, S. 325 (1882).

[2]) *Pohl*, Wie bewahrt man am besten Gummischläuche auf? Gummimarkt. Bd. **5**, S. 503 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 96 (1912).

[3]) Vgl. z. B.: *L. Raybaud*, Über die Schädlichkeit der Sonnenstrahlung. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1324 (1909). — *F. W. Hinrichsen* und *K. Memmler*, Der Kautschuk und seine Prüfung. Leipzig (S. Hirzel), 1910, S. 84. — Vgl.: *Swan*, Über Lichtempfindlichkeit des Kautschuks. Dingl. Polytechn. Journ. Bd. **199**, S. 511 (1871).

[4]) Siehe z. B.: *V. Henry*, Wirkung der ultravioletten Strahlen auf den Kautschuk. Le Caoutchouc et la Gutta-Percha. T. **7**, p. 4371 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 563 (1910). — *L. Raybaud*, Der Einfluß ultravioletter Strahlen auf Kautschuk. Le Caoutchouc et la Gutta-Percha. T. **8**, p. 5736 (1911).

[5]) Vgl.: Wie konserviert man Patentgummiwaren? Gummi-Ztg. Bd. **26**, S. 179 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 190 (1912).

[6]) *F. Großmann*, Gummiwaren im Fabriklaboratorium. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 446 und S. 1173 (1912).

[7]) Vgl.: *E. Ritter*, Zur Frage der Konservierung von Gummiwaren. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1173 (1912).

möglichst gleichmäßiger Temperatur (ca. 15°) auf. Von Zeit zu Zeit sind alle Gummisachen zu kneten und zu dehnen oder auf der Tischplatte zu rollen. Sind einzelne Stücke hart geworden, so legt man sie vor dem Kneten in ca. 40° warmes Wasser, dem etwa 5% Salmiakgeist zugesetzt sind.[1])

Auch das Aufbewahren von Gummigegenständen in einer von Petroleumdampf erfüllten Atmosphäre soll sehr zu empfehlen sein[2]), die Aufbewahrung in hölzernen Kisten ist ganz zu verwerfen.[3]) — Von mehreren Seiten wurde vorgeschlagen, Kautschukgegenstände bei 100° mit Paraffin zu tränken, um sie gegen scharfe Substanzen widerstandsfähig zu machen[4]) und sie gegen das Rissig- und Brüchigwerden zu schützen.[5])

Auch wurden Anstrich- und Imprägnierungsmittel für Gummiwaren vorgeschlagen, um ihr Hart- und Brüchigwerden zu verhindern.[6]) Über die Qualitätsverschlechterung der von der Industrie für die chemischen Laboratorien gelieferten Gummiwaren und die Ursache dieser Verschlechterung wurde vielfach gestritten.[7]) Am sichersten vermeidet man Ärger über rasch unbrauchbar werdende Gummigeräte, wenn man diese bei einem zuverlässig erprobten Spezial-Gummiwarenhändler einkauft, und teure Qualitäten wählt, namentlich wenn hohe Anforderungen an die Beschaffenheit zu stellen sind. Billige Gummiwaren sind im Gebrauch stets teuer.[8])

Wie man selbst auf einfache Weise die Qualität von Gummiwaren prüfen kann, darüber finden sich Angaben in der einschlägigen Literatur.[9]) Besonders schädlich ist die übermäßige Verwendung mineralischer Füllstoffe

---

[1]) *F. Großmann,* Gummiwaren im Fabriklaboratorium. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 446 und 1173 (1912).

[2]) *W. Hempel,* Die Konservierung von Gegenständen aus vulkanisiertem Gummi. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **15**, S. 914 (1882). — Vgl. dagegen aber auch: *E. Ritter,* Zur Frage der Konservierung von Gummiwaren. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1173 (1912) u. *F. Ahrens,* dasselbe, ebenda S. 1280. — Siehe ferner: *F. W. Hinrichsen* und *K. Memmler,* l. c. S. 251 ff.

[3]) *W. Hempel,* loc. cit.

[4]) *Mareck,* l. c.

[5]) *U. Kreusler,* Verfahren zum Paraffinieren von Kautschukwaren. D. R.-P. 18.740; Dingl. Polytechn. Journ. Bd. **245**, S. 312 (1882).

[6]) *Wo.* und *Wa. Ostwald,* Verfahren, um das Erhärten und Brüchigwerden von Kautschuk, Guttapercha und Balata zu verhindern. D. R.-P. 221.310; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 280 (1910). — Dieselben, Verhinderung oder Verlangsamung des Verderbens von fertigen Gummigegenständen. D. R.-P. 243.346; Chem.-Ztg. Bd **36**, Rep. S. 130 (1912). — *C. Beyer,* Erhaltung der Elastizität von Gummiwaren. D. R.-P. 243.248; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 130 (1912).

[7]) Vgl.: *P. Alexander,* Theorie und Praxis der Regeneration des Kautschuks. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 808 [und 905] (1910). — Derselbe, Über Kautschukregeneration. Ebenda. S. 1152. — *H. Mastbaum,* ebenda, S. 877 und 1025. — *W. Esch,* Über Kautschukregeneration. Ebenda, S. 1082 und 1177. — Siehe auch: *G. Bode,* Wie ist der Qualitätsverschlechterung der Kautschukgeräte zu steuern? Ebenda. Bd. **35**, Rep. S. 1197 (1911). — Ferner: *O. Binder,* Über Gummiwaren für chemische und physikalische Zwecke. Ebenda. Bd. **35**, S. 996 (1911) und: *W. Esch,* ebenda, S. 1029. — *F. Ahrens,* Zur Frage der Konservierung der Gummiwaren, ebenda, Bd. **36**, S. 1280 (1912).

[8]) *F. Großmann,* loc. cit. S. 447 und 1173.

[9]) Siehe z. B.: Qualitätsprüfung im chirurgischen Geschäft. Gummi-Ztg. Bd. **25**, S. 1927 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 96 (1912).

(Schwerspat), deren Anwesenheit sich durch ein erhöhtes spez. Gewicht leicht feststellen läßt; gute Gummiwaren zeigen ein spez. Gewicht von 1·0—1·5.[1]) Jedoch wechselt dieses etwas mit der Temperatur: Ein grauer vulkanisierter Kautschuk zeigte bei 0° das spez. Gewicht 1·0084, bei 21° dagegen 0·9965.[2])

Vor allem passe man auch bei der Wahl von Kautschukwaren diese dem spezifischen Verwendungszweck möglichst an, ähnlich wie man ja auch nicht mit einer einzigen Sorte Filtrierpapier auskommt und außerdem auch noch anderes Filtrationsmaterial als Papier benutzen muß.[3]) Die heutige Gummiwaren-Industrie ist hoch genug entwickelt, um fast für alle speziellen Anforderungen des Laboratoriums ein brauchbares Material liefern zu können. So gibt es z. B. Schläuche von besonderer Gummimischung für Wasser, Laugen, Säuren, Fette und Öle, Heißdampf, Leuchtgas, Spiritus, Benzin usw., ferner Schläuche, die gegen physikalische Beanspruchungen wie Hochdruck, Preßluft, Vakuum, Hitze usw. besonders widerstandsfähig sind. Für diese Zwecke, z. B. für Drucke bis 200 Atmosphären, befinden sich Schläuche mit Metallpanzerung, innerer oder äußerer Drahtspirale, Stoff- oder Asbesteinlagen, äußerer Umspinnung u. dgl. im Handel. Um Schläuchen eine starre Form zu erteilen: als Kühl- oder Heizschlangen, Heber od. dgl., kann man einen starken Draht einziehen, dem man die gewünschte Form gibt.

„Zum Reinigen von Gummischläuchen benutzt man vorteilhaft die dreiteilige Schlauchbürste (Fig. 199), die man mittelst eines dünnen Drahtes — am besten eignet sich dünner Stahldraht, sog. Klavierdraht, hierzu — hindurch zieht.

Fig. 199.



Schlauchbürste.

Die Reparatur von Gummischläuchen geschieht bei kleineren Defekten durch Aufkleben eines Stückchens dünner Gummiplatte mittelst Kautschuklösung, wobei man die Oberflächen am besten vorher durch Bearbeitung mit Glas- oder Schmirgelpapier rauht.“[4]) Frische Schnittflächen haften übrigens häufig mit der ganzen ursprünglichen Kraft eines unverletzten Stückes aneinander, wenn sie, ohne berührt worden zu sein, fest aneinandergedrückt werden. Vermieden wird dieses Ankleben durch Anwendung befeuchteter Messer oder durch Schneiden unter Wasser.[5])

An Stelle der verhältnismäßig kostspieligen massiven Gummistopfen genügen häufig solche mit einem Glaskern. Durch Überziehen von ge-

[1]) *F. Großmann,* loc. cit. S. 447 u. S. 1173.

[2]) *G. Hüfner,* Einige Versuche über die Absorption von Gasen durch grauen vulkanisierten Kautschuk. Annal. d. Physik, [2], Bd. **34**, S. 1 (1888).

[3]) *F. Großmann,* Gummiwaren im Fabriklaboratorium. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 417 und 446 (1912).

[4]) *F. Großmann,* loc. cit. S. 446.

[5]) Siehe z. B.: Handbuch der techn. Chemie von *Stohmann* und *Kerl* (*Muspratts* Handwörterbuch der Chemie). 4. Aufl. 1893, Bd. **4**, S. 1070.

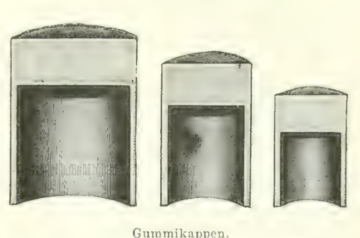
wöhnlichen Glasstopfen mit einem Stück möglichst dickwandigen Kautschukschlauchs kann man sie sich leicht selbst herstellen.[1])

Um Gummistopfen mit Hilfe einer Metallkette in bequemer Weise auf Flaschenhälsen zu befestigen, kann man sich einer von *Rebenstorff*[2]) angegebenen Vorrichtung bedienen.

Den mit einem Metalldrücker versehenen Mechanikstopfen empfiehlt sich für sehr dünnwandige Gefäße anzuwenden: man faßt den Stopfen mittelst Daumen und Mittelfinger, drückt mit dem Zeigefinger den Stempel nieder, wodurch der Stopfen gestreckt wird und seinen Durchmesser verringert, setzt ihn ein und läßt den Stempel zurückgehen.[3])

Häufig ist es ratsam, sich an Stelle von Gummistopfen der Gummikappen zu bedienen, die in den Größen von 8—150 *mm* Durchmesser und in schwarzer und weißer Farbe käuflich sind.

Fig. 200.



Gummikappen.

Ihr Vorzug vor massiven Stopfen besteht hauptsächlich darin, daß ein in dem Gefäß entstehender Gasdruck keine gefährlichen Wirkungen, etwa durch Zertrümmerung des Gefäßes, ausüben kann. Besonders bei der Aufbewahrung leicht zersetzlicher Substanzen, wie Diazo- und Nitrokörpern und überhaupt Explosivstoffen, ist die Anwendung von Gummikappen als luftdichter und trotzdem loser Gefäßverschluß sehr angebracht. Eine für viele Zwecke recht brauchbare neuere Form einer Gummikappe zeigt die nebenstehende Schnittzeichnung[4]) (Fig. 200).

Im allgemeinen vertragen gewöhnliche Gummiwaren anstandslos Temperaturen bis etwa 120—130°, über 150° sollte man nur sog. Heißdampfschläuche erwärmen. Das leidige Anbacken von Gummistopfen und Schläuchen an Glas oder Metall verhütet man durch einfaches Bestreichen mit Vaseline oder durch Anätzen des Gummis mit konzentrierter Schwefelsäure.[5]) Fest angebackene Stopfen macht man in folgender Weise frei: man zieht sie stramm an, bis eine Verkleinerung des Durchmessers im oberen Teile eintritt, und träufelt dann einige Tropfen Wasser oder Öl in die von Flaschenhals und Stopfen gebildete Rinne.[6])

[1]) *v. Heygendorff*, Paraffin- und Gummistopfen mit Glaskern. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 300 (1911).

[2]) *H. Rebenstorff*, Ein Hilfsmittel für das Festmachen von Stopfen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 3 (1910).

[3]) *F. Großmann*, loc. cit. S. 446.

[4]) *B. Tolmacz & Co.*, Ges. f. Lab.-Bedarf m. b. H., Ein neuer Ersatz für Kautschukstöpsel. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 596 (1911).

[5]) *K. Kling*, Ein automatischer Saugheber. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 32 (1912).

[6]) *F. Großmann*, loc. cit. S. 447.

Für viele Zwecke besonders störend, namentlich bei gasanalytischen Versuchen, ist die Gasdurchlässigkeit des vulkanisierten Kautschuks.[1]) Setzt man die Geschwindigkeit, mit der ein bestimmtes Volumen Stickstoff eine Kautschukmembran durchdringt, gleich 1, so verhalten sich nach *Graham*[2]) die Diffusionsgeschwindigkeiten gleicher Volumina anderer Gase folgendermaßen:

	Diffusionsgeschwindigkeit	Mol.-Gew. des Gases
Stickstoff	1·000	28
Kohlenoxyd	1·113	28
Luft	1·149	28 und 32
Methan	2·148	16
Sauerstoff	2·556	32
Wasserstoff	5·500	2
Kohlendioxyd	13·585	44

Besonders auffallend ist hiernach die abnorm große Diffusionsgeschwindigkeit gerade des Gases mit dem höchsten Molekulargewicht, also des spezifisch schwersten Gases: des Kohlendioxyds. Steht doch dieser Befund gar nicht im Einklang mit dem „*Graham*schen Diffusionsgesetz", wonach die Geschwindigkeiten, mit der zwei Gase durch poröse Scheidewände hindurchdiffundieren, sich umgekehrt verhalten, wie die Quadratwurzeln aus ihren Molekulargewichten. Der Grund dieser Gesetzwidrigkeit liegt wohl in einer Löslichkeit von Kohlendioxyd im Kautschuk.[3]) — Auf der Tatsache, daß aus einem mit Kohlendioxyd gefüllten Kautschukschlauch dieses Gas rascher hinaus-, als Luft hineindiffundiert, beruht z. B. der bereits erwähnte Vorgang, daß sich solche Schläuche gleichsam selbst evakuieren und vom äußeren Luftdruck zu einem glatten Bande zusammengepreßt werden. Dieselbe Erscheinung zeigt sich übrigens auch — in diesem Falle durchaus im Einklang mit dem *Graham*schen

[1]) Vgl. darüber z. B.: Handbuch der techn. Chemie v. *Stohmann* und *Kerl* (*Muspratts* Handwörterbuch der Chemie), 4. Aufl. 1893, Bd. 4, S. 1070.

[2]) *Th. Graham*, Jahresber. d. Chem. 1866, S. 43; siehe z. B.: Derselbe, Über die Absorption und dialytische Trennung von Gasen durch Kolloidmembranen. Poggendorfs Annal. d. Physik. Bd. **129**, S. 549 (1866) u. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **6**, S. 108 (1867).

[3]) Siehe z. B.: *V. Henry*, Der Durchgang von Gasen durch Kautschuk. Le Caoutchouc et la Gutta-Percha. T. **7**, p. 4351 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 547 (1910). — *G. Hüfner* stellte fest, daß Wasserstoff und Stickstoff von Kautschuk bei gewöhnlichen Temperaturen nicht absorbiert werden, wohl aber in geringem Maße Sauerstoff, der oxydierend wirkt, und sehr stark Kohlendioxyd: grauer, vulkanisierter Kautschuk nimmt bei —2° etwa sein gleiches Volumen Kohlendioxyd auf; vgl. *G. Hüfner*, Einige Versuche über die Absorption von Gasen durch grauen vulkanisierten Kautschuk. Annal. d. Physik. [2], Bd. **34**, S. 1 (1888). — Vgl. ferner: *Kobbe*, Über das Diffusionsvermögen der Kohlensäure in bezug auf Kautschuk. Thonindustr.-Ztg. Bd. **14**, S. 297 (1890); Chem.-Ztg. Bd. **14**, Rep. S. 167 (1890). — *E. Obach*, Durchlässigkeit des Kautschuks für Kohlensäure. Chem.-Ztg. Bd. **14**, S. 1142 (1890). — *F. Steinitzer*, Das Verhalten von Kautschuk zu Kohlensäure. Gummi-Ztg. 1912, S. 1626; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 609 (1912).

Diffusionsgesetz — bei Schläuchen, die mit Wasserstoff gefüllt sind.[1]) Läßt man mit Wasserstoff gefüllte Kautschukschläuche an der Luft liegen, so tritt, wie bei den analogen Versuchen mit Kohlendioxyd, allmählich Selbstevakuierung ein. Ferner scheint auch Schwefelwasserstoff, Ammoniak und Schwefeldioxyd aus Gummischläuchen rascher zu entweichen, als die Luft eindringt. Für das praktische Arbeiten im Laboratorium ist die Kenntnis dieser eigentümlichen Erscheinungen gelegentlich von großer Wichtigkeit. Auf diese Diffusionsvorgänge hat man z. B. zu achten, wenn bei einer apparativen Anordnung Gefäße (z. B. Waschflaschen) vorhanden sind, die, mit einem jener Gase gefüllt, untereinander Gummiverbindungen aufweisen. In diesem Falle kann infolge der Selbstevakuierung beim Stehen an der Luft ein sehr unliebsames Zurücksteigen der Flüssigkeiten eintreten. — Nach einigen Forschern[2]) sind Kautschukwandungen außer für Kohlendioxyd auch besonders durchdringlich für feuchte Luft. — Über die Diffusion von Schwefeldioxyd durch Kautschuk sei auf die Literatur[3]) verwiesen. — Bei der Temperatur der flüssigen Luft wird anscheinend kein Gas mehr durch Kautschuk hindurchgelassen.[4])

Theoretische Erklärungen für das soeben erörterte Verhalten des Kautschuks gegen Gase sind außer von *Graham* von vielen anderen Forschern zu geben versucht worden.[5]) Nach *Grunmach*[6]) nimmt die Diffusionsgeschwindigkeit von Kohlendioxyd zu mit der Differenz der Partialdrucke diesseits und jenseits einer Kautschukplatte, aber nicht der Differenz proportional, wie bisher angenommen. Ferner nimmt die Diffusionsgeschwindigkeit mit der Schichtdicke des Kautschuks ab, aber nicht ihr umgekehrt proportional. Nach *Graham*[7]) wächst ferner die Gasdurchlässigkeit von Kautschuk mit steigender Temperatur: bei 16° ist z. B. das Volumen atmosphärischer Luft, das durch eine gegebene Fläche Kautschuk in ein Vakuum eindringt, in der gleichen Zeit 4mal so groß als bei 4° und bei 60° sogar 12mal so groß.

---

[1]) Vgl. z. B.: *G. Austerweil,* Über das Durchdringen des Wasserstoffes der mit Kautschuk behandelten Ballonhüllen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 306 (1912).

[2]) Siehe: *C. R. Fresenius,* Anl. z. quant. chem. Analyse. 6. Aufl. 1896, Braunschweig (Vieweg & Sohn), Bd. 2, S. 755, Fußnote 1.

[3]) *A. Reychler,* Über die angebliche Diffusionsfähigkeit gewisser Gase durch eine Kautschukmembran. Bulletin de la Soc. chim. de Paris [3], T. **9**, p. 404; Chem. Zentralbl. 1893, II, S. 250. — Derselbe, Über die Absorption von Schwefligsäureanhydrid durch Kautschuk und durch Wolle. Journ. de Chim. physique. T. 8, p. 3 (1910); Chem. Zentralbl. 1910, I, S. 1562. — Vgl. im übrigen: *R. Ditmar,* Die Analyse des Kautschuks . . . Wien und Leipzig (A. Hartleben) 1909, S. 55.

[4]) *J. Dewar,* Forschungen bei niederer Temperatur. Chem. News. Vol. **91**, p. 216 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 1689.

[5]) *S. v. Wroblewski,* Über die Natur der Absorption der Gase. Annal. d. Physik [2], S. 29 (1879); Jahresber. 1879, S. 72. — *G. Hüfner,* loc. cit. — *V. Henry,* Der Durchgang von Gasen durch Kautschuk. Le Caoutchouc et la Gutta-Percha. T. 7, p. 4351 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 547 (1910).

[6]) *L. Grunmach,* Versuche über die Diffusion von Kohlensäure durch Kautschuk. Physikal. Zeitschr. Bd. **6**, S. 795 (1905); Chem. Zentralbl. 1906, I, S. 23.

[7]) l. c. (Siehe Fußnote 2 auf S. 650.)

Außer Kohlendioxyd absorbiert Kautschuk auch Äthylen, Benzoldampf und die übrigen im Leuchtgase enthaltenen schweren Kohlenwasserstoffe. Aus diesem Grunde nimmt die Lichtstärke einer Leuchtgasflamme je nach der Länge des in die Gasleitung eingeschalteten Schlauchs mehr oder weniger ab.[1])

Ferner ist die zerstörende Wirkung der Halogenwasserstoffsäuren, besonders der gasförmigen, auf Kautschukschläuche und -stopfen eine häufige Laboratoriumserfahrung. Hierbei lagern sich anscheinend zwei Moleküle Halogenwasserstoff an das Kautschukmolekül an.[2]) Auch die chemische Einwirkung der Halogene auf Kautschuk hat vielfache Bearbeitung erfahren.[3])

Näher untersucht sind ferner die Einwirkungsprodukte von Ozon[4]) und von salpetriger Säure[5]) auf Kautschuk. Beide Gase wirken bekanntlich ebenfalls äußerst energisch zerstörend auf Kautschukgeräte ein.

Um Kautschukschläuche vor der Einwirkung zerstörender Gase zu schützen, genügt oft das Überziehen mit einer Vaselineschicht oder mit Stanniol; um sie undurchlässig zu machen, kann man verschiedene Wege einschlagen.

Es soll z. B., um mit der ältesten Angabe hierüber zu beginnen, ein Überzug einer Asphaltlösung in Teer den Kautschuk undurchdringlich für Gase machen.[6]) Zu empfehlen ist ferner das folgende Verfahren: Man legt den Kautschuk in ein warmes, geschmolzenes Gemisch von Wachs und Paraffin und stellt dann das Ganze in einen Exsikkator, den man evakuiert. Die Luft entweicht alsbald aus den Poren des Kautschuks, und beim Aufheben des Vakuums wird die flüssige Mischung, die dann noch nicht erstarrt sein darf, durch den äußeren Luftdruck tief in die Poren des Kautschuks hineingetrieben.[7]) Empfehlenswert ist es auch, Kautschukschläuche und Stopfen mit einer dickflüssigen, warmen Lösung von Gelatine in Glyzerin, dem etwas Wasser zugesetzt ist, zu überpinseln:

---

[1]) *K. Zulkowsky*, Über den Einfluß der Kautschukröhren auf die Lichtstärke des Leuchtgases. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **5**, S. 759 (1872).

[2]) *C. O Weber*, Über die Natur des Kautschuks. I. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. **33**, S. 789 (1900).

[3]) Vgl. darüber z. B.: *F. W. Hinrichsen* und *K. Memmler*, Der Kautschuk und seine Prüfung. Leipzig (L. Hirzel) 1910, S. 49 und 100.

[4]) *C. Harries*, Über den Abbau des Parakautschuks vermittelst Ozon. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **37**, S. 2708 (1904). — Derselbe, Zur Kenntnis der Bestandteile des Ozons. Ebenda. Bd. **45**, S. 943 (1912). — Siehe im übrigen *Hinrichsen* und *Memmler*, loc. cit. S. 22 und 85.

[5]) *C. Harries*, Über das Verhalten des Kautschuks gegen salpetrige Säure. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **34**, S. 2991 (1901). — Siehe im übrigen: *Hinrichsen* und *Memmler*, loc. cit. S. 51ff.

[6]) *Aronstein* und *Sirks*, Über Diffusion der Gase durch Kautschuk. Zeitschr. f. Chemie [2], Bd. **2**, S. 260 (1866).

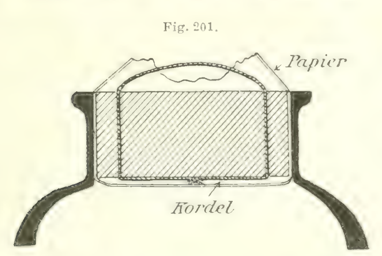
[7]) Vgl.: *C. Paal* und *J. Gerum*, Über das flüssige Hydrosol des Palladiumwasserstoffs. Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. **41**, S. 809, Fußnote 1 (1908).

Die Mischung erstarrt alsbald, bleibt aber dauernd elastisch.[1] Im Handel befinden sich auch für Gase angeblich dichte Schläuche mit Gelatine-Einlagen, sowie die aus einer umsponnenen Leim-Mischung bestehenden sogenannten amerikanischen Gasschläuche, die überhaupt keinen Kautschuk enthalten, sondern leglich an den Enden mit je einer Gummimuffe zum Aufstecken versehen sind.[2]

14. Kork. (Vgl. S. 12—13.)

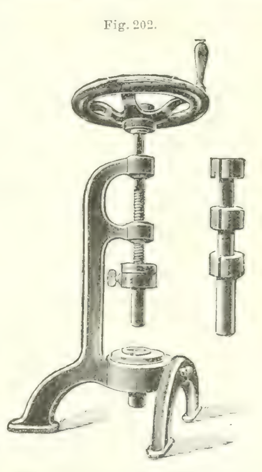
Um Korken dicht und widerstandsfähig zu machen, kann man sie mit einer Lösung von Zellulose in Kupferoxyd-ammoniak überziehen. Man löst dann das Kupfer in einem Säurebad heraus und pergamentiert

Fig. 201.



Vorrichtung zum bequemen und sauberen Öffnen zugekorkter Flaschen nach *Kohl*.

Fig. 202.



Korkbohrmaschine nach *Hanfland*.

den Überzug in einem Schwefelsäurebad. Gegenüber dem Paraffinüberzug hat dieser Überzug den Vorteil, daß er gegen mechanische Einflüsse widerstandsfähiger ist und das Quellen der Korke in heißem Wasser vor dem Gebrauche zuläßt.[3] — Auch kann man in Amylazetat gelöstes Zelluloid zum Überziehen von Korkstopfen verwenden.[4]

Um jederzeit die Verschlußkorken von Präparatenflaschen sauber und bequem öffnen zu können, brennt oder bohrt man zwei Löcher in den Korken, zieht einen Bindfaden hindurch und verknotet dessen Enden

[1]) Vgl.: *F. W. Hinrichsen* und *R. Kempf,* Zur Frage der Hydrierung des Benzols. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **45**, S. 2111 (1912). — Auch eine Mischung von 20 T. Leim, 100 T. Wasser und 10—15 T. Glyzerin wurde zum Dichten von Kautschukschläuchen empfohlen; vgl.: *F. Steinitzer,* Das Verhalten von Kautschuk zur Kohlensäure. Gummi-Ztg. 1912, S. 1626; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 609 (1912).

[2]) Siehe *F. Großmann*, Gummiwaren im Fabriklaboratorium. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 418 (1912).

[3]) *L. Pink,* Überziehen von Korken mit einer widerstandsfähigen, neutralen Schicht. D. R.-P. 227.918; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 635 (1910).

[4]) Derselbe, Überziehen . . . . D. R.-P. 240.563; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 599 (1911).

miteinander. Dann umgibt man den Stopfen mit Papier, so daß jede Verunreinigung des Flascheninhalts durch Korksubstanz oder Paraffin ausgeschlossen ist[1]) (Fig. 201).

Um Korkstopfen (oder Gummistopfen) bequem und sauber zu durchbohren, bedient man sich mit Vorteil besonderer kleiner Vorrichtungen (Fig. 202): Man steckt den passenden Bohrer mit seinem zylindrischen Kopfstück in das Spindelfutter, den nächstgrößeren als Unterlage in den „Frosch", stellt den Kork auf und schraubt mit Hilfe des Handrades den Bohrer durch den Kork. An der Unterseite des Korks schneidet der arbeitende Bohrer, ohne auf ein Gegenlager zu drücken, durch und dringt in das Rohr des im Frosch liegenden nächstgrößeren Bohrers ein. Auf diese Weise wird ein glatter Ausschnitt erzielt, ein Ausbrechen des Korkrandes verhindert und die Schneide des Bohrers außerordentlich geschont.[2])

Durch ein patentiertes Verfahren ist es gelungen, den Kork chemisch und physikalisch — hauptsächlich durch fast doppelte Vergrößerung seines Zellvolumens — so zu verändern, daß seine Wirkung als Wärmeisolator um etwa 60% erhöht, sein spezifisches Gewicht um $^2/_3$ herabgesetzt wird (etwa 0·08 gegen 0·25) und seine Empfindlichkeit und Durchlässigkeit für Feuchtigkeit aufgehoben wird. Der so veredelte Kork wurde Expansit genannt.[3])

Nachträge zum zweiten Kapitel.

Zerkleinern und Sieben.

Vgl. Bd. I, S. 13—17.

I. Zerkleinern. (Vgl. S. 13—16.)

Nicht nur physikalische Eigenschaften der Materie, wie Lösungsdruck, Sublimationsspannung, Schmelzpunkt erfahren bei weitgehendem Pulvern der Substanz eine beträchtliche Veränderung, sondern auch chemisch wirken die Stoffe bei äußerst feiner Zerteilung oft ganz auffallend anders als im gröberen Zustande.

Namentlich Oxydationsprozesse vollziehen sich an fein verteilter Materie weit energischer als an gröberen Stücken. Läßt man z. B. eine Lösung von Phosphor in Schwefelkohlenstoff auf Filtrier- oder Asbestpapier verdunsten, so gerät das äußerst feinkörnig abgeschiedene Element alsbald in Brand.[4]) Ferner sei an die Selbstentzündlichkeit von fein ver-

[1]) *H. Kohl,* Sauberes und bequemes Öffnen von Präparatenflaschen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1027 (1911). — Vgl. auch hierzu: *Cobenzl,* Gestutzte Korken ein Ärgernis. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1061 (1912).

[2]) *F. Hanfland,* Eine neue Korkbohrmaschine. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 908 (1911).

[3]) Vgl.: *M. Grünzweig,* Der Kork als Wärmeisolator. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1119 (1910).

[4]) Vgl.: *O. Ohmann,* Zur Selbstentzündung des gelösten Phosphors. Zeitschr. f. d. physik. u. chem. Unterricht. Bd. **16**, S. 352 (1903); Chem. Zentralbl. 1904, II, S. 634.

teilten Metallen (pyrophorisches Eisen, Zinn und Blei) erinnert.[1]) — Sehr fein verteiltes Knallquecksilber zeigt die dreifache Wirkung des gewöhnlichen.[2])

Ferner sind viele biochemische Vorgänge im lebenden Organismus, z. B. die Wirkung des atmosphärischen Sauerstoffs bei der tierischen Atmung, nur durch die äußerst feine Zerteilung erklärlich, mit der die oxydierbaren Stoffe in den Kapillaren der Wirkung des Sauerstoffs dargeboten werden.[3])

Bei der Oxydation von Anthracen zu Oxanthron mittelst gasförmigen Chlors hängt die Ausbeute sehr erheblich von dem Grade der Verteilung des Ausgangsmateriales ab: pulvert man nur in gewöhnlicher Weise das Anthracen, so erhält man 25—30% Oxanthron, löst man das Anthracen aber in Eisessig, gießt in Wasser und behandelt nun diese Flocken mit Chlor, so steigt die Ausbeute bis auf etwa 75%.[4])

Auch bei Reduktionsprozessen spielt die Verteilung der Materie eine wichtige, oft energisch beschleunigende Rolle. Es sei nur an die enorme Wirksamkeit von Platinmohr, z. B. bei der Reduktionskatalyse u. dgl. erinnert (vgl. dieses Handbuch, Bd. IV, S. 773 ff.). Am feinsten zerteilt befindet sich die Materie im kolloidalen Zustande. Es ist klar, daß die große Reaktionsfähigkeit von Stoffen in kolloidaler Lösung ebenfalls hauptsächlich auf die feine Verteilung der Substanz zurückzuführen ist.

Beim Pulvern mancher Mineralien entweichen eingeschlossen gewesene Gase, z. B. Helium aus Thorianit von Ceylon. Hierbei zeigte es sich, daß um so mehr Helium entwickelt wird, je feiner das Material gepulvert wurde. Die Gasentwicklung begann bei einer Teilchengröße von etwa 5 μ Durchmesser. Eine noch feinere Pulverung als 3 μ bewirkte aber keine weitere Erhöhung des in Freiheit gesetzten Heliumbetrages.[5])

Bei der Bestimmung des Kristallwassergehaltes erhält man oft mit gemahlenem und ungemahlenem Material verschiedene Werte, namentlich wenn man das Mahlen längere Zeit fortsetzt.[6]) Die Wärmeentwicklung beim Reiben im Achatmörser mag dabei die Hauptrolle spielen, bei Salzen, die an der Luft unter den gewöhnlichen Verhältnissen des Drucks und der Temperatur verwittern, kommt natürlich auch die schnellere

---

[1]) *W. van Rijn*, Über die Einwirkung von fein verteilten Metallen auf Wasser. Chem. Weekblad. Bd. 5, S. 1 (1907); Chem. Zentralbl. 1908, I, S. 606. — Vgl. ferner u. a. auch: *V. Kohlschütter* und *A. Noll*, Über feine Metallzerteilungen. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **18**, S. 428 (1912). — *Fr. Fischer* und *G. Iliovici*, Über Zinnstickstoff und pyrophores Zinn. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. 42, S. 532 (1909).

[2]) *L. Wöhler*, Über Initialzündung. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 640 (1910).

[3]) Vgl. z. B.: *J. Volhard*, Biographie *Just. v. Liebig*. Leipzig (Joh. Ambr. Barth) 1909, Bd. 2, S. 114.

[4]) *Kurt H. Meyer*, Zur Kenntnis des Anthracens. *Liebig*s Annal. d. Chem. Bd. **379**. S. 78 (1911).

[5]) *J. A. Gray*, Freimachen von Helium aus radioaktiven Mineralien durch Pulvern. Proc. Royal Soc. London. Serie A, Vol. 82, p. 301 (1909); Chem. Zentralbl. 1909, II, S. 104.

[6]) *J. B. Bleeker*, Die Wirkung fortgesetzten Mahlens auf das Kristallisationswasser. Chem. News. Vol. **101**, p. 30 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 190.

Wasserabgabe bei der stark vergrößerten Oberfläche als Ursache in Betracht. Bei Baryumchlorid sind z. B. nur verhältnismäßig geringe Wärmegrade erforderlich, um 10—12% Wasser zu entfernen.[1])

Es empfiehlt sich, Reagenzien von festem Aggregatzustande nicht feingepulvert, sondern in groben Stücken aufzubewahren, damit sie sich besser halten.[2])

Das spezifische Gewicht einer homogenen, von Sprüngen und Höhlungen freien Substanz wird durch Pulvern nicht verändert: ist die Substanz nicht homogen, so ist die Dichte des feinen Pulvers größer, als die des grobkörnigen.[3])

1. Mörser. (Vgl. S. 14.)

Um leicht komprimierbare, klebrige Produkte in der Reibschale fein zu pulvern, empfiehlt es sich, die Masse in feuchtem Zustande zu zerreiben. Gleichzeitig wird hierdurch die Zerkleinerung weitergehend, als bei anderen Mahlprozessen. Man verfährt z. B. in der Weise, daß man das Produkt mit einer es nicht lösenden Flüssigkeit, etwa Alkohol oder Wasser, übergießt und so lange kräftig reibt, bis es eine mehr oder weniger steife, nicht knirschende Paste bildet. Unter beständigem, losem Umrühren wird dann die Masse durch Erwärmen des Mörsers getrocknet.[4])

In manchen Fällen wird man weiche elastische Massen, z. B. Kautschuk, auch so in einen pulverisierbaren Zustand überführen können, daß man sie durch starke Abkühlung, ev. mittelst flüssiger Luft, zu spröden, harten Massen erstarren läßt. Z. B. wird eine Rosenblüte durch Eintauchen in flüssige Luft alsbald so spröde wie Glas, so daß man sie in einem Mörser staubfein pulvern kann.

2. Mühlen. (Vgl. S. 14.)

Bei allen Zerkleinerungsmaschinen mit eisernen Innenteilen hat man mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das Mahlgut mit Eisenteilchen verunreinigt wird. Hierauf wurde von neuem hingewiesen.[5])

---

[1]) *C. E. Gillette*, Die Wirkung fortgesetzten Pulverns auf das Kristallwasser. Chem. News. Vol. **104**, p. 313 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 118 (1912).

[2]) *B. Bardach*, Über das Pulvern von Reagenzien. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 689 (1912). — *Kohlmeyer*, dasselbe. Ebenda. S. 797.

[3]) *J. Johnston* und *H. Adams*, Über das spezifische Gewicht fester Substanzen unter besonderer Berücksichtigung permanenter Veränderungen, hervorgebracht durch hohe Drucke. Journ. Amer. Chem. Soc., Vol. **34**, p. 563 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 555 (1912).

[4]) *E. Bornemann*, Zur Analyse von Asphaltprodukten. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1225 (1909).

[5]) Vgl. z. B.: *G. A. James*, Verunreinigung von Laboratoriumsproben durch Eisen, welches aus den Zerkleinerungsapparaten stammt. Chem. Eng. Vol. **14**, p. 380 (1911). — *V. Lenher*, Über die Verunreinigungen von Analysenmustern durch das Eisen der Zerkleinerungsmaschinen. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **4**, p. 471 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 441 (1912).

II. Sieben. (Vgl. S. 16 und 17.)

Das deutsche Arzneibuch[1]) unterscheidet als Maßstab für Zerkleinerungen 6 Siebnummern, aufsteigend von 1—6 beziffert nach sinkenden Maschenweiten von 4, 3, 2, 0·75, 0·30 und 0·15 *mm*. Als grob gepulvert werden Arzneimittel bezeichnet, die das Sieb Nr. 4 (0·75 *mm* Maschenweite) passiert haben, mittelfein gepulvert entspricht der Maschenweite 0·30 *mm* und fein gepulvert der Maschenweite 0·15 *mm*.

Ein „Normalsieb“ von bestimmter Maschenweite und bestimmter Dicke der Fäden oder Drähte schlug *Perrin*[2]) vor.

Nachträge zum dritten Kapitel.

Abwägen und Abmessen.

Vgl. Bd. I, S. 17—26.

I. Gewichtsbestimmung. (Vgl. S. 17—21.)

Da es keine absolut gleicharmige Wage gibt, muß man bei Differenzwägungen stets streng darauf achten, daß man den Gegenstand bei den aufeinander zu beziehenden Wägungen auf derselben Wageschale wägt. Kommt es aber, was im Laboratorium ja selten der Fall ist, auf die Feststellung des absoluten Gewichtes eines Gegenstandes an, so muß man diesen nacheinander auf beiden Schalen wägen und dann das arithmetische Mittel aus den beiden Ergebnissen nehmen. Daß grobe Fehler entstehen können, wenn man diese Regeln nicht beachtet, erhellt aus dem folgenden Versuch. Ein Gewichtsstück vom Nominalwert 100 *g* wurde auf fünf verschiedenen, längere Zeit gebrauchten analytischen Wagen (von *F. Sartorius* in Göttingen) jedesmal sowohl auf der linken wie auf der rechten Schale gewogen. Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle, die für sich selber spricht.

Wage	Gewicht auf der linken Schale	Gewicht auf der rechten Schale	Differenz in *mg*	Mittel
1	100·0006	99·9980	2·6	99·9993
2	100·0006	99·9979	2·7	99·9993
3	100 0026	99·9960	6·6	99·9993
4	99·9977	100·0010	3·3	99·9994
5	100·0000	99·9983	1·7	99·9992

Ebenso ergibt auf den meisten Handwagen, wovon man sich leicht durch den Versuch überzeugen kann, ein und derselbe Gegenstand ein etwas anderes Gewicht, je nachdem man ihn auf der einen oder auf

[1]) 5. Ausg. 1910, Berlin (R. v. Deckers Verlag), S. XXVII.

[2]) *Perrin*, Den Nutzen eines Siebtyps, eines sogenannten Normalsiebes. Ann. Falsific. Bd. 5, S. 81 (1912); Chem.-Ztg. Bd. 36, Rep. S. 341 (1912).

der anderen Schale wägt. Besonders groß wird natürlich die Abweichung der beiden Wägungen bei starker Belastung. Denn wenn auch die Empfindlichkeit einer Wage, d. h. der Ausschlag für 1 *mg* Übergewicht auf einer Seite, praktisch unabhängig ist von der Belastung — vorausgesetzt, daß die drei Schneiden in einer Ebene liegen —, so hängt trotzdem die Genauigkeit einer Wägung, d. h. die Differenz zwischen wahrem und gefundenem Gewicht, durchaus von der Belastung ab, eben weil keine Wage vollkommen gleicharmig ist. Denn es ist leicht einzusehen, daß an einem ungleicharmigen Hebel zwar das Verhältnis der wahren und gefundenen Gewichte unabhängig von der Belastung ist, nämlich stets gleich dem Verhältnis der Längen der Wagebalkenhälften, daß aber die Differenz der Gewichte, die beim Einspielen der Wage auf beiden Schalen liegen, um so größer sein wird, je größer die Belastung ist.

Zeigt z. B. eine nicht genau gleicharmige Handwage, die bei 1 *cg* Übergewicht auf einer Schale eben noch einen merklichen Ausschlag gibt, bei 100 *g* Belastung einen Unterschied im Wägungsergebnis von 0·05 *g*, wenn man Gegenstand und Gewichte vertauscht, so ist bei 10 *g* Belastung ein Gewichtsunterschied beim Umwechseln von Gewichten und Gegenstand nicht mehr zu bemerken. Nimmt man an, daß die eine Balkenhälfte nur um den 2000. Teil länger ist als die andere, also z. B. 100·05 *mm* mißt statt 100·00 *mm*, so sind — da $p \cdot l = \text{Konst.}$ — auf der kürzeren Seite 100·05 *g* Gewicht $\left(100 + \frac{100}{2000}\right)$ notwendig, um einem genau 100·00 *g* schweren Gegenstande das Gleichgewicht zu halten, während ein 10 *g* schwerer Gegenstand nur ein — auf der Wage durch einen Ausschlag nicht mehr merkbares — Übergewicht von 0·005 *g* $\left(\frac{10}{2000}\right)$ erfordert. Aus diesem Beispiel geht auch hervor, daß die absolute Genauigkeit bei nicht ganz gleicharmigen Wagen der Belastung umgekehrt proportional ist.

Von den durch die Ungleicharmigkeit der Wagen entstehenden Fehlern kann man die Wägungen in einfacher Weise unabhängig machen entweder durch die Methode der Doppelwägung, indem man den Gegenstand nacheinander auf beiden Schalen wägt und das arithmetische Mittel nimmt (vgl. die Tabelle oben, S. 657) oder (weniger bequem) durch die Tariermethode, indem man den Gegenstand mittelst Schrot oder dergleichen zunächst tariert und ihn dann bis zum nochmaligen Einspielen der Wage durch Gewichte ersetzt.[1]) Eine von diesen Methoden wird man namentlich immer dann anwenden, wenn es bei Wägungen mit größerer Belastung auch auf ein einigermaßen genaues absolutes Gewicht ankommt, also wenn man z. B. eine Substanz genau wägen will, die in einem chemischen Prozeß Gase entwickelt oder verschluckt, deren Menge man

[1]) Siehe z. B.: *E. Wiedemann* und *H. Ebert*, Physik. Praktikum, 5. Aufl., Braunschweig (F. Vieweg & Sohn), 1904, S. 46.

quantitativ bestimmen will. Denn Gase pflegt man nicht zu wägen, sondern zu messen und aus ihrem Volumen bei bestimmtem Druck und bestimmter Temperatur das Gewicht zu berechnen. —

Öfters tritt, hauptsächlich bei analytischen Arbeiten, die Frage an den Chemiker heran, ob es notwendig sei, die analytische Wage zu benutzen und auf vier Dezimalen genau abzuwägen, oder ob es genüge, das Gewicht auf etwa 0·01 *g* genau mittelst der Handwage zu bestimmen. Denn gemäß dem Grundsatz des energetischen Imperativs [1]): „Vergeude keine Energie, verwerte sie!" wägt und mißt der Chemiker nicht gern genauer, als unbedingt notwendig. [2]) Auch spart man Zeit und schont die analytische Wage, wenn man diese vor jeder unnötigen Benutzung tunlichst bewahrt.

Ob nun im Einzelfall der Gebrauch der Handwage zur Einwage bei der chemischen Analyse zulässig ist oder nicht, darüber kann man sich leicht durch folgende Überlegung Rechenschaft geben. Eine gute Handwage gestattet auf 0·01 *g* genau abzuwägen. Enthält nun z. B. das Analysenausgangsmaterial, in welchem man einen Bestandteil x bestimmen will, diesen zu etwa 1% und will man 3 *g* des Ausgangsmaterials (enthaltend also 0·03 *g* an x) zur Analyse verarbeiten, so entspricht ein Fehler von 0·01 *g* bei der Einwage des Ausgangsmateriales nur einem Fehler von $\frac{0\cdot01}{100} = 0\cdot0001\,g$ an dem zu bestimmenden Bestandteil $= 0\cdot003\%$ der Einwage. Dieser Fehler bleibt weit unter dem üblichen Analysenfehler, wie er durch sonstige Ungenauigkeiten beim Arbeiten erfahrungsgemäß unvermeidlich ist. Man kann daher in diesem Fall das Ausgangsmaterial für die Analyse mit der Handwage einwägen.

Als zweites Beispiel möge ein Fall angeführt werden, wo die Einwage der Analysensubstanz mit der analytischen Wage vorzunehmen ist. Man habe 1 *g* Ausgangsmaterial zur Verfügung und soll darin einen Bestandteil, der zu etwa 3% im Material vorhanden sei (also wiederum 0·03 *g* im ganzen), quantitativ bestimmen. Ein Fehler von 0·01 *g* bei der Einwage entspräche dann $\frac{0\cdot01\,.\,3}{100} = 0\cdot0003\,g$ des Bestandteils $= 0\cdot03\%$ des Ausgangsmaterials. Hier ist also der Fehler 10mal größer als im vorigen Fall und erfordert den Gebrauch der Analysenwage: Wenn man die Abweichung vom wahren Wert, die erfahrungsgemäß die betreffende Analyse ergibt, zu etwa 0·01% annimmt, so liegt dieser Wert im ersten Fall über, im zweiten Fall unter dem Wägungsfehler, den die Handwage infolge ihrer Ungenauigkeit ohnehin erwarten läßt. Bedeutet a die Einwage des Ausgangsmaterials, b dessen Gehalt an dem zu bestimmenden Bestandteil in Prozenten, so ist die Analysenwage bei der Einwage

[1]) Vgl.: *Wilh. Ostwald,* Der energetische Imperativ. Leipzig (Akad. Verlagsgesellschaft m. b. H.), 1912; vgl.: Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. 18, S. 927 (1912).

[2]) Vgl. auch *Hagen:* „Der Mangel an mathematischer Bildung gibt sich durch nichts so auffallend zu erkennen, wie durch maßlose Schärfe im Zahlenrechnen" (Motto der logarithmischen Rechentafel für Chemiker von *F. W. Küster*).

anzuwenden, wenn $\frac{0{\cdot}01 \,.\, b}{a}$ größer als die Abweichung von b ist, die erfahrungsgemäß durch die Analyse entsteht. Ergibt dagegen $\frac{0{\cdot}01 \,.\, b}{a}$ einen Wert, der kleiner als der zu erwartende Analysenfehler ist, so genügt es, sich der Handwage zu bedienen.

Auch bei der Herstellung von Titrierflüssigkeiten genügt häufig zum Einwägen der zu lösenden Substanz die Handwage. Wägt man z. B. 20 *g* ab und löst diese Menge im Liter, so enthält jeder Tropfen der Lösung (ca. 0·03 cm^3) 0·0006 *g* Substanz. Diese Menge bezeichnet, da man die Titration höchstens nur auf einen Tropfen genau ausführen kann, den durch die Ungenauigkeit der Arbeitsweise bedingten Fehler. Hat man also 10 cm^3 Titrierflüssigkeit verbraucht = 0·2 *g* Substanz, so beträgt der ohnehin zu erwartende Fehler $\frac{0{\cdot}0006 \,.\, 100}{0{\cdot}2} = 0{\cdot}3\%$. Hat man aber die Gesamtmenge von 20 *g* um 0·01 *g* falsch abgewogen, so bedeutet dies nur einen Fehler von 0·05%.

Beim Herstellen von Titerlösungen verringert sich eben ein Wägefehler der Einwage in demselben Maße, wie die Menge der Verbrauchslösung kleiner ist als die Gesamtlösung, auf die sich die Einwage bezog. Verbraucht man z. B. 10 cm^3 einer Lösung von einem Liter Volumen, so tritt nur der 100. Teil des Fehlers der Einwage in die Erscheinung: ein Fehler von 0·01 *g* schrumpft auf 0·0001 *g* zusammen. — Jedoch wird man sich bei der Titrieranalyse in gewissen Fällen, z. B. bei der Herstellung von Urtiterlösungen, auch der Analysenwage zur Einwage bedienen, ohne dann aber ängstlich auf Zehntelmilligramme genau zu wägen. —

Weit öfters als zu genau wird jedoch zu ungenau gewogen. Beides ist gleich verwerflich und wurzelt in demselben Grundübel: der Unkenntnis der Genauigkeitsgrenze einerseits der chemischen Analyse, andrerseits der physikalischen Messung. Bei allen quantitativen Angaben sollte man sich über die Fehlergrenzen, innerhalb deren diese Angaben richtig sein können, wenigstens angenähert im klaren sein. Die Unsicherheit, mit der die Werte infolge der Mängel der Methode und des Beobachters behaftet sind, ist wenn möglich der Größe nach zum Ausdruck zu bringen. —

Im allgemeinen dürfte die Aufzeigung gewisser leicht übersehbarer Fehlerquellen beim Wägen, die das Ergebnis ungenau machen, praktisch ungleich wichtiger sein als die Warnung vor übertriebenem Eifer, allzu genau zu wägen.

Ein sehr genaues Wägen auf der analytischen Wage ist z. B. erforderlich, wenn man in einer Lösung die Menge des gelösten Stoffes durch Gehaltsbestimmung eines Aliquoten, etwa des 1000. Teils des Ganzen, feststellen will. In diesem Fall vergröbert sich — umgekehrt wie bei der Herstellung von Titerlösungen — ein etwaiger Fehler bei der Wägung des aliquoten Teils in demselben Verhältnis, in welchem das Ganze zum Teil steht, also im vorliegenden Falle um das 1000fache.

Bezüglich der Genauigkeitsgrenze des Wägens auf analytischen Wagen sei zunächst darauf hingewiesen, daß der Auftrieb, den die Körper beim Wägen in der Luft infolge deren Verdrängung erleiden, sich bei Änderung des Luftzustandes (des Druckes, der Temperatur und der Feuchtigkeit) zwischen zwei aufeinander zu beziehenden Wägungen erheblich verändern kann, so daß er unter Umständen nicht vernachlässigt werden darf.[1]) Der Wägungsunterschied kann schon bei einem gewöhnlichen Porzellantiegel mehr als $^1/_2$ *mg* betragen. Weit größere Fehler entstehen beim Wägen von Glasgefäßen, wenn man deren „Wasserhaut“ nicht berücksichtigt. Bekanntlich sind alle Glasgefäße, die der freien Atmosphäre ausgesetzt sind, an ihrer Oberfläche mit einer Schicht adsorbierten Wassers bedeckt, das einen äußerst geringen Dampfdruck hat, bei höherer Temperatur aber fortgeht.[2]) Je nachdem man das Gefäß mit dieser Wasserschicht oder ohne sie wägt, zeigt es verschiedenes Gewicht.[3]) Nach *Ostwald*[4]) erhält man übereinstimmende Wägungen, wenn man das Glas, bevor es auf die Wage gebracht wird, befeuchtet und dann mit weichen Leintüchern sanft abtrocknet. In dieser Weise behandelt, bringt man es mit dem Maximum der Wasserschicht zur Wägung. *Finkener*[5]) ließ gläserne Wägegefäße vor dem Wägen zunächst außen ganz mit Wasserdampf beschlagen und sie dann bis zur völligen Verdunstung der feinen Wassertröpfchen im Wägeraum stehen.

Um die Oberfläche von Glasgefäßen weniger hygroskopisch zu machen, legte *Landolt*[6]) diese lange Zeit vor dem Gebrauche mehrere Tage in verdünnte Schwefelsäure und dann in Ammoniak-Lösung, oder behandelte sie 8 Stunden lang mit kochendem Wasser.[7]) Nach Versuchen von *Ihmori*[8]) beträgt das Gewicht der auf ausgekochtem Jenaer Glas vorkommenden Wasserschicht 0·00035—0·00068 *mg* pro 1 cm^2 Fläche. Über die Zeitdauer, innerhalb deren sich eine verschwundene Wasserhaut wieder ersetzt, haben *Warburg* und *Ihmori*[9]) Versuche angestellt und gefunden, daß bei Glas-

[1]) Vgl. hierüber: *O. Kuhn*, Einige Bemerkungen über das Wägen. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 1097 und 1108 (1910).

[2]) Vgl. u. a. auch: *E. Cohnstaedt*, Über die Wasserhaut auf Glas und Aluminium und über ihren Einfluß auf den Druck in Vakuumröhren. Ann. d. Physik [4], Bd. 38, S. 223 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 83.

[3]) Vgl. namentlich: *E. Warburg* und *T. Ihmori*, Über das Gewicht und die Ursache der Wasserhaut bei Glas und anderen Körpern. Annal. d. Physik. [2], Bd. 27, S. 491 (1886).

[4]) *W. Ostwald*, Hand- und Hilfsbuch zur Ausführung physiko-chemischer Messungen. Leipzig (W. Engelmann) 1893, S. 111.

[5]) Nach einer Privatmitteilung von Dr. *E. Kedesdy*, Berlin-Lichterfelde.

[6]) *H. Landolt*, Über die Erhaltung der Masse bei chem. Umsetzungen. Abh. d. Deutsch. Bunsen-Ges., Halle a. S. (W. Knapp) 1909, S. 9.

[7]) Nach Versuchen von *F. Förster* (Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 33, S. 299 [1893]) bietet die Behandlung des Glases mit verdünnten Säuren keinen Vorzug vor der mit Wasser.

[8]) *T. Ihmori*, Über die Aufnahme des Wasserdampfes durch feste Körper. *Wiedemanns* Ann. d. Physik. Bd. 31, S. 1014 (1887).

[9]) *E. Warburg* und *T. Ihmori*, Über das Gewicht und die Ursache der Wasserhaut bei Glas und anderen Körpern. *Wiedemanns* Ann. d. Physik. Bd. 27, S. 502 (1886).

flächen von 30 cm^2 die Bildung der Wasserhaut schon nach 10—15 Minuten erfolgt war. Bei größeren Glasgefäßen kann die Wiederherstellung der durch Trocknen entfernten Wasserhaut 2—3 Tage dauern.[1])

Kuhn[2]) stellte folgende Regeln zur Beachtung bei genauem Wägen auf:

1. Der zu wägende Gegenstand muß vor der Wägung so lange im Wagekasten gestanden haben, daß sich seine Oberfläche mit dem Feuchtigkeitszustande der Luft im Innern der Wage ins Gleichgewicht gesetzt und er die Temperatur des Wagekastens angenommen hat. Handelt es sich um ein geschlossenes Gefäß (Kaliapparat, Wägeglas od. dgl.), so muß der Verschluß unmittelbar vor der Wägung für einen Augenblick geöffnet werden, um den innern Luftdruck mit dem äußeren auszugleichen.

2. Um die ungleichmäßige Ausdehnung der beiden Hälften des Wagebalkens zu vermeiden, ist stets eine Doppelwägung unter Vertauschung der beiden Schalenbelastungen vorzunehmen.

3. Nachdem Gegenstand und Gewichte auf die Schalen gesetzt sind, muß noch 10—15 Minuten bei geschlossenem Wagekasten gewartet werden, bevor die endgültige Ablesung vorgenommen wird.

4. Wenn der zu wägende Gegenstand ein Tiegel, Absorptionsapparat od. dgl. ist, dessen spezifisches Gewicht wesentlich verschieden von dem der Gewichtsstücke ist, so muß die Reduktion auf den luftleeren Raum vorgenommen werden unter Berücksichtigung des Luftdrucks, der Temperatur und womöglich auch des Feuchtigkeitsgehalts der Luft im Wagekasten im Augenblick der Wägung.

5. Handelt es sich um die Wägung einer hygroskopischen Substanz, so stellt man den Tiegel plus Substanz nach völligem Erkalten im Exsikkator in ein luftdicht verschließbares Wägeglas und wägt mit diesem. —

Größere Wägungsfehler können auch durch unrichtige analytische Gewichtssätze verursacht werden.[3]) Bezüglich deren Eichung sei auf die Literatur[4]) verwiesen.

Stellt man die Gewichte zur bequemeren Handhabung im Wägekasten selbst auf, so empfiehlt es sich, sie mit einer auf Pappflächen ruhenden Glasscheibe zu bedecken.[5]) Ist man zu fortlaufenden analytischen Arbeiten mit einer großen Reihe gleicher Wägegefäße gezwungen, so spart man beim Wägen und beim Ausrechnen des Analysenergebnisses viel Zeit,

---

[1]) *H. Landolt*, Untersuchungen über die fraglichen Änderungen des Gesamtgewichtes chemisch sich umsetzender Körper, III. Mitteilung. Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. **64**, S. 586 (1908). — Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. 1908, S. 359.

[2]) *O. Kuhn*, Einige Bemerkungen über das Wägen. loc. cit. S. 1109.

[3]) Siehe z. B.: *H. Thiele*, Aus der Laboratoriumspraxis. I. Über die Veränderungen von Gewichtssätzen. Zeitschr. f. öffentl. Chem. Bd. **6**, S. 149 (1900); Chem. Zentralbl. 1900, I, S. 1185.

[4]) Über die Eichung des Gewichtssatzes nach *Th. W. Richards* siehe: *A. Stock* und *A. Stähler*, Praktikum der quantitativen anorganischen Analyse. Berlin (Jul. Springer) 1909, S. 30—34.

[5]) *L. T. Bowser*, Einfache Bedeckung für analytische Gewichte. Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 354 (1909).

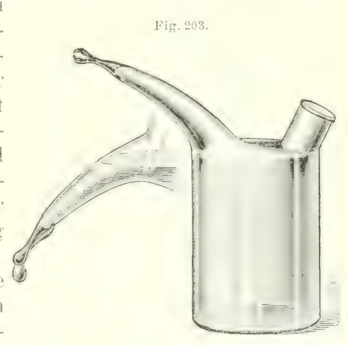
wenn man alle Gefäße durch Zufügen einer festen Tara auf das gleiche Gewicht bringt.[1])

Die Mikrowage von *Nernst*[2]) gab vielfache Anregungen, noch empfindlichere, genauere und bequemere Mikrowagen zu konstruieren.[3]) Hier sei nur kurz auf die in *Ramsays* Laboratorium zum Teil nach Angaben von *Steele*[4]) konstruierte Vakuum-Mikrowage hingewiesen, die die erstaunliche Empfindlichkeit von $^1/_{500\cdot000}$ *mg* erreicht.[5])

II. Volumbestimmung. (Vgl. S. 21—26.)

Eine neue Form eines Normal-Tropfenzählers, der der Forderung des Deutschen Arzneibuchs[6]), 20 Tropfen destilliertes Wasser im Gewicht von 1 *g* bei 15⁰ zu liefern, bei bestimmten Arbeitsbedingungen entspricht, wurde neuerdings vorgeschlagen[7]) (Fig. 203). Das Gefäß wird vor der Glasbläserlampe hergestellt und ist daher ohne jede Gefahr des Zerspringens durch Erhitzen sterilisierbar. Wird die Eingußöffnung durch einen Wattepfropf verschlossen, so kann man der Tropfflasche eine keimfreie Lösung entnehmen.

Fig. 203.



Normal-Tropfenzähler nach *Kunz-Krause*.

Eine andere neue Tropfflasche mit flaschem, deckelförmigem Stopfen sei hier nur erwähnt.[8]) Eine zur Aufbewahrung und Entnahme von Flüssigkeiten geeignete Flasche mit selbst-

---

[1]) *Uber*, Über analytische Apparate mit Ausgleich des Taragewichts. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 255 (1910). — Vgl. ferner: *T. Zöhren*, Gleich schwere Wägegläschen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 824 (1912). — *A. Müller*, Gleich schwere Wägegläschen. Ebenda. Bd. **36**, S. 891 (1912) und: *Fr. Herles*, Dasselbe. Ebenda. S. 1014.

[2]) *W. Nernst* und *E. H. Riesenfeld*, Über quantitative Gewichtsanalyse mit sehr kleinen Gewichtsmengen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **36**, S. 2086 (1903).

[3]) Vgl. darüber z. B.: *F. Emich*, Über die Fortschritte der Mikrochemie seit *H. Behrens*. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 638 (1911).

[4]) Sir *W. Ramsay* und *R. W. Gray*, Die Dichte der Radiumemanation. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **151**, p. 126 (1910); Chem. Zentralbl. 1910, II, S. 788. — *R. W. Gray* und *W. Ramsay*, Die Dichte des Nitons („Radiumemanation") und die Zerfallstheorie. Proc. Royal Soc. London, Serie A, Vol. **84**, p. 536 (1911); Chem. Zentralblatt. 1911, I, S. 866. — *R. W. Gray* und *W. Ramsay*, Das Atomgewicht des Radiums. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **80**, S. 266 (1912).

[5]) Siehe auch z. B.: *F. Emich*, Über mikrochemische Analyse. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1002 (1910).

[6]) Deutsches Arzneibuch, 5. Ausg. 1910, Berlin (R. v. Decker), S. XXVIII.

[7]) *H. Kunz-Krause*, Über einen neuen Normal-Tropfenzähler. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 15 (1912).

[8]) *A. Katz*, Tropfflasche mit auf dem flachen Rande dichtendem flachen Deckel. D. R.-P. 219.612; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 233 (1910).

tätigem Abschluß und Tropfvorrichtung schlug ferner *Kaufmann*[1]) vor: der Apparat stellt die Kombination einer Stöpselflasche, einer Pipette und eines Hebers dar und eignet sich besonders für luftempfindliche, zu therapeutischen Zwecken anwendsame Lösungen.

Will man zu einem Reaktionsgemisch eine Flüssigkeit tropfenweise kontinuierlich zufügen, so wendet man am bequemsten einen Tropftrichter mit Glashahn an. Die Tropftrichter von zylindrischer Form haben vor den birnförmigen den Vorzug, daß man die abgetropfte Flüssigkeitsmenge leichter schätzen oder an einer Volumteilung (Fig. 204) sogar genau ablesen kann. Derartige Tropftrichter mit zwei und drei Gefäßen und doppelt bzw. dreifach gebohrtem Hahn[2]) (Fig. 205) sind überall da empfehlenswert, wo im Verlauf einer Operation zwei oder drei Flüssigkeiten nacheinander in dasselbe Gefäß einzuführen sind. Die Hähne sind so gebohrt, daß immer nur aus einem der zwei bzw. drei zylindrischen Gefäße das Reagens heraustropfen kann. Die Stopfen, die die Trichter oben verschließen, sind sogenannte Hahnstopfen, die durch einfache Drehung die Verbindung des Trichterinnern mit der Atmosphäre herstellen.

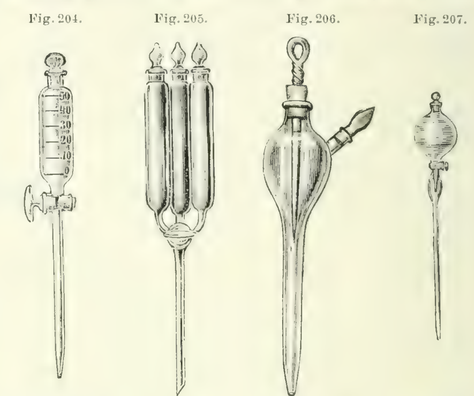


Fig. 204. Zylindrischer Tropftrichter mit Teilung.

Fig. 205. Dreifacher Tropftrichter.

Fig. 206. Tropftrichter nach *Bulk*.

Fig. 207. Tropftrichter nach *Walter*.

Für manche Zwecke[3]) sind die Tropftrichter nach *Bulk*[4]) (Fig. 206) sehr praktisch. Den Verschluß bildet hier ein eingeschliffener Glasstab, der in einen Korkstopfen schraubenförmig auf und ab gedreht werden kann.

[1]) *L. Kaufmann*, Über eine zur Aufbewahrung und Entnahme von Flüssigkeiten geeignete Flasche mit selbsttätigem Abschluß und Tropfvorrichtung. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 1519 (1912).

[2]) *E. Comanducci*, Verein. Fabriken f. Laboratoriumsbedarf. Berlin, Liste Nr. 120, S. 511.

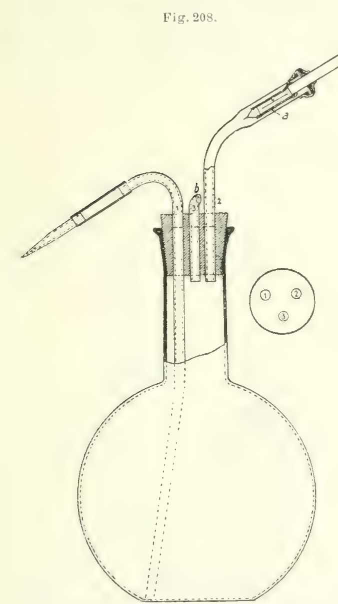
[3]) Vgl. z. B.: *C. Gräbe*, Über Darstellung von Chlor aus Natriumchlorat und über Gewinnung von Phosphortrichlorid. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **34**, S. 649 (1901). — Derselbe, Über Darstellung von Chlor mittelst übermangansaurer Salze. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **35**, S. 44 (1902). — *F. Ullmann*, Über die Verwendung von Dimethylsulfat als Alkylierungsmittel. *Liebigs* Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. **327**, S. 106 (1903).

[4]) *C. Bulk*, Über einen einfachen Scheidetrichter. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **9**, S. 1898 (1876).

Die Tropftrichter nach *Walter* (Fig. 207) gestatten das Abfließen einzelner Tropfen bequem außerhalb des eigentlichen Reaktionsgefäßes zu beobachten. Ist dieses undurchsichtig, oder ist die Spitze des Tropftrichters aus irgend einem anderen Grunde den Blicken nicht zugänglich, z. B. bei sehr dunkel gefärbten Reaktionsmassen, so erweist sich dieser Tropftrichter oft als sehr nützlich. —

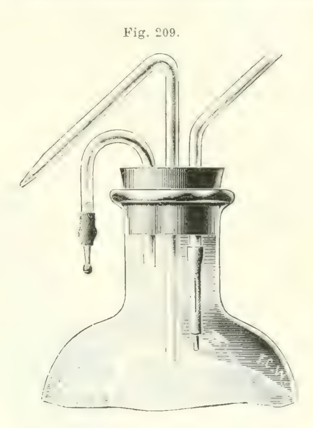
An Spritzflaschen empfiehlt es sich, im Blasrohr ein Rückschlagventil anzubringen, das den einmal in der Flasche erzeugten Druck so lange

Fig. 208.



Spritzflasche mit Ventilen nach *Schaare*.

Fig. 209.



Spritzflasche mit Ventilen nach *Gamber*.

aufrecht erhält, bis durch den Ausfluß des Wassers oder durch das Öffnen einer mit dem Finger verschließbaren Öffnung der Druckausgleich eingetreten ist.[1]) In der nebenstehenden Abbildung einer derartigen Spritzflasche[2]) (Fig. 208) bezeichnet *a* das Gummirückschlagventil, *b* das Druckausgleichrohr. Praktischer mag es sein, dieses letztere an dem Ventilrohr selbst anzubringen; es bedarf dann nur eines zweifach durchbohrten Stopfens.[3]) Auch für das Herauslassen der komprimierten Luft kann ein

[1]) *O. Bach,* Laboratoriumsapparate. Spritzflasche mit konstantem Strahl. Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. **11**, S. 479 (1875). — Vgl. u. a. auch: *R. L. Steinlen,* Neue Laboratoriumspparate. 1. Spritzflasche mit automatischen Luft- und Sicherheitsventilen. Chem.-Ztg. Bd. **28**, S. 753 (1904).

[2]) *C. Schaare,* Neuer Spritzflaschenaufsatz mit Gummirückschlagventil und Druckausgleichrohr. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 60 (1910); vgl.: *O. Bach* und ferner: *v. d. Kerkhoff,* beide ebenda, S. 101.

[3]) *O. Bach,* loc. cit. (Journ. f. prakt. Chem. u. Chem.-Ztg.)

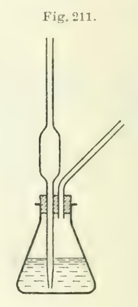
Ventilverschluß angewendet werden[1]) (Fig. 209). Man zieht über das Druckausgleichrohr (siehe die Abbild.) ein Stückchen Gummischlauch, dessen Durchmesser etwa dem halben Durchmesser des Glasrohres entspricht, und schiebt einen konischen Glaskörper ein. Will man den Wasserstrahl unterbrechen, so genügt ein einfaches Heben des dornförmigen Fortsatzes des Glasventils mit dem Finger. — Eine selbsttätige Spritzflasche, die sich besonders für ätzende Flüssigkeiten eignet, erhält man durch heberartige Verlängerung des Ausspritzrohres und Anwendung eines kurzhalsigen Stehkolbens[2]) (Fig. 210). Durch einfaches Neigen nach vorn in der Richtung des Ausspritzrohres wird die Spritzflasche betätigt, durch Neigen in die entgegengesetzte Richtung das Ausspritzen unterbrochen. — Das Blasrohr der gewöhnlichen Spritzflaschen wird zur Sicherheit stets mit einer kugelartigen Erweiterung versehen, die als Speichelfänger dient und eventuell mit einer Filterpackung aus Watte oder Glaswolle beschickt werden kann. —

Fig. 210.



Selbsttätige Spritzflasche nach *Hain*.

Fig. 211.



Füllen einer Pipette mit einer giftigen Flüssigkeit.

Von Pipetten und Büretten sind eine fast unabsehbare Reihe von Neukonstruktionen vorgeschlagen worden. Einige der wichtigeren seien hier kurz erwähnt.

Um eine gewöhnliche Pipette mit giftigen, riechenden oder sehr flüchtigen Flüssigkeiten zu füllen, kann man entweder mit Hilfe einer langsam laufenden Wasserstrahlpumpe statt mit dem Munde saugen oder aber mittelst des beistehend abgebildeten Apparats (Fig. 211) die Flüssigkeit empordrücken.[3]) Den gleichen Zweck erfüllen Pipetten, die nicht angesaugt, sondern angeblasen werden; wird z. B. ein Luftstrom horizontal über das obere Ende einer Pipette geblasen, so entsteht in dieser eine Luftverdünnung (nach dem Prinzip der bekannten Flüssigkeits-Sprühapparate), und die Flüssigkeit steigt im Pipettenrohr empor, bis man ihr in der ge-

[1]) *O. Gamber*, Verbesserung an der Spritzflasche mit Bunsenventil. Chem.-Ztg. Bd. **24**, S. 395 (1900). — *W. Kohrs*, Spritzflasche zum quant. Arbeiten. ebenda, Bd. **26**. S. 556 (1902).

[2]) *J. Hain*, Selbsttätige Spritzflasche. Chem.-Ztg. Bd. **35**, 697 (1911).

[3]) Vgl.: *A. Stock* und *A. Stähler*, Praktikum der anorganisch-chemischen Analyse. Berlin (Jul. Springer) 1909, S. 71.

wünschten Höhe durch Schließen der Pipette mit dem Finger Einhalt gebietet[1]) (Fig. 212). Eine praktische Sicherheitspipette mit automatischer Einstellung[2]) (Überlaufprinzip) zeigt Fig. 213. Eine ähnliche Konstruktion kann man sich leicht selbst herstellen, indem man mit Hilfe eines Stückchens Gummischlauch ein T-Glasrohr über eine gewöhnliche Pipette schiebt, die an der Marke abgeschnitten worden ist[3]) (Fig. 214).

Eine neue Mikrobürette[4]) (Fig. 215), mit deren Hilfe man beim Titrieren einen deutlichen Umschlag beim Zufügen weniger Tausendstel Kubikzentimeter von $^1/_{100}$-n-Lösungen erhalten kann, gewährt die gleiche Genauigkeit, wie die Wägung auf der *Nernst*schen Mikrowage (siehe oben, S. 663). Die zwei in $^1/_{100}$ *cm*^{3} geteilten Büretten sind mit dem Reaktionsgefäß derart zu einem Ganzen verschmolzen, daß die Titerflüssig-

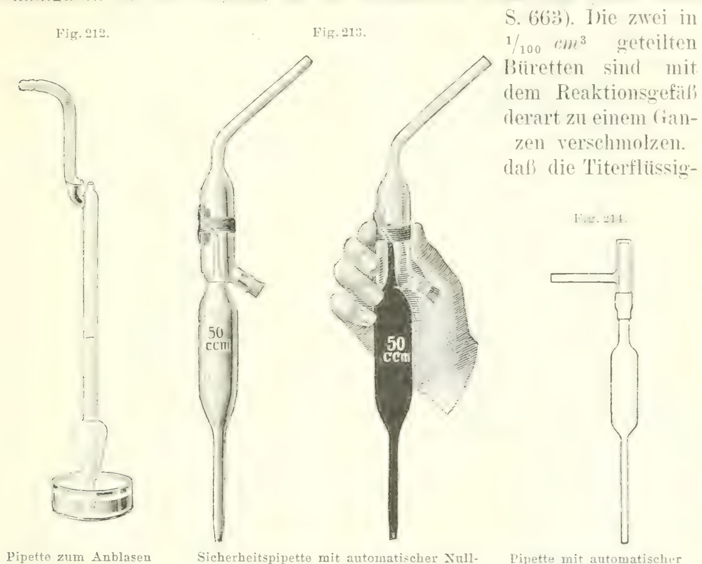


Fig. 212. Pipette zum Anblasen (D. R. P.).

Fig. 213. Sicherheitspipette mit automatischer Nullpunkts-Einstellung.

Fig. 214. Pipette mit automatischer Einstellung nach *Thomas*.

keiten unmittelbar zusammentreten können, ohne Tropfen zu bilden. — Enge Büretten mit einer Teilung in Hundertstel Kubikzentimeter wurden auch von anderer Seite angewendet.[5])

[1]) *B. Bomborn*, Pipette, D. R.-P. 220.867. Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 217 (1910).

[2]) Vgl.: *Rosenthal*, Über die Wasser- und Schmandbehandlung in Erdölen. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1259 (1909).

[3]) Vgl.: *J. B. Thomas*, Eine automatische Pipette. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 2, p. 330 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 380.

[4]) *F. Pilch*, Maßanalytische Versuche mit kleinen Flüssigkeitsmengen. Monatsh. f. Chem. Bd. **32**, S. 21 (1911); vgl.: *F. Emich*, Über die Fortschritte der Mikrochemie. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 637 (1911).

[5]) *E. Ebler*, Über Versuche zur Darstellung des metallischen Radiums. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 2615 (1910).

Von der großen Fülle neuer „Titrierapparate", d. h. kombinierter Zusammenstellungen von Meß- und Vorratsgefäß, seien nur einige wichtigere angeführt. Einen praktischen Apparat zum Aufbewahren und Abmessen giftiger, hygroskopischer oder tiefsiedender Flüssigkeiten, wie wasserfreier Blausäure, Brommethyl, Brom u. dgl., zeigt Fig. 216. Der Apparat[1]) ermöglicht es z. B., bei der Darstellung von wasserfreier Blausäure diese frisch destilliert aufzufangen und aufzubewahren, ohne daß sie mit der äußeren Luft in Berührung kommt. Beim Auffangen der

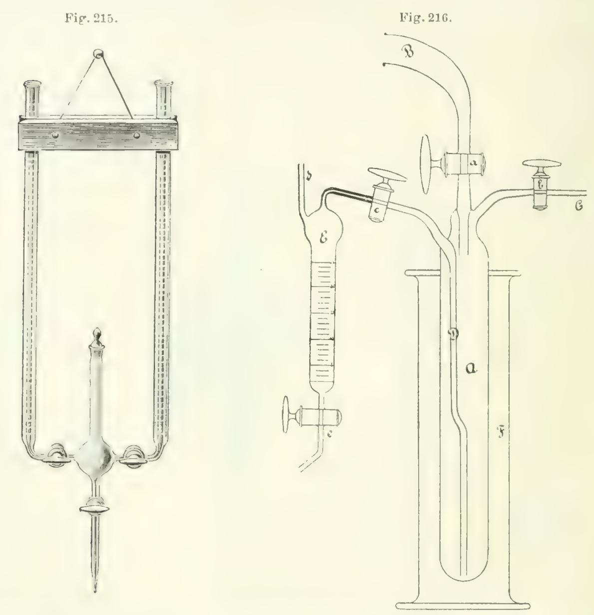


Fig. 215. Mikrobürette nach *Pilch*.

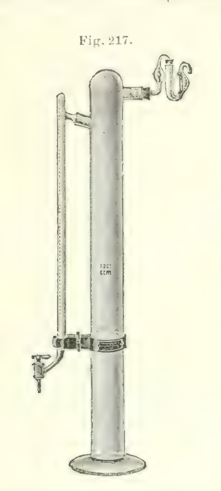
Fig. 216. Apparate zum Aufbewahren und Abmessen giftiger, hygroskopischer oder tiefsiedender Flüssigkeiten nach *Steinkopf*.

Blausäure ist der Hahn *c* geschlossen, Hahn *a* und *b* sind offen, bei *C* wird zur Abhaltung von Luftfeuchtigkeit ein mit Chlorkalzium und Ätzkali beschicktes Rohr angeschlossen. Die Blausäure fließt dann aus dem Destillationskühler durch den Vorstoß *B* in das Gefäß *A*, wo sie infolge einer in dem Zylinder *F* befindlichen Alkohol-Kohlendioxydmischung von — 25° bis — 30° sofort kristallinisch erstarrt. Ist alle Blausäure übergegangen, so werden die Hähne *a* und *b* geschlossen, und die Blausäure kann nun,

[1]) *W. Steinkopf,* Apparat zum Aufbewahren und Abmessen giftiger, hygroskopischer oder tiefsiedender Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1319 (1910).

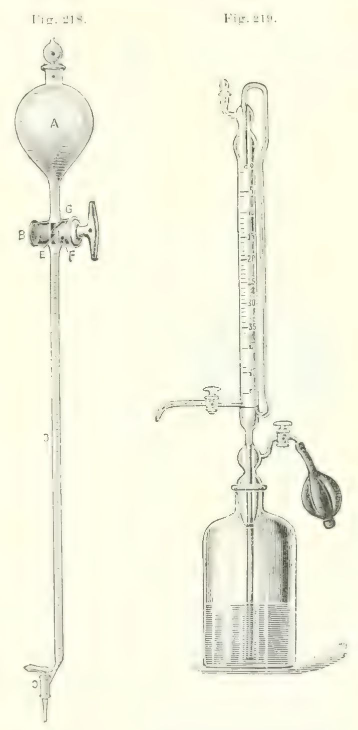
wenn sie völlig rein, insbesondere wasserfrei ist, wochenlang unverändert aufbewahrt werden. Zur Entnahme bestimmter Mengen wird an *C* ein längeres Chlorkalzium-Kalirohr und dahinter ein Gummidruckball angeschlossen. Mit Hilfe dieses Druckballs wird die Luft in *A* etwas komprimiert und der Hahn *b* dann geschlossen. Nun kann durch vorsichtiges Öffnen des Hahnes *c* ein gleichmäßiger Strom Blausäure in die graduierte

Fig. 217.



Titrierapparat nach *Tolmacz & Co.*

Fig. 218. Fig. 219.



Titrierapparat nach *G. Müller.*

Titrierapparat mit automatischer Nullpunktseinstellung nach dem Heberprinzip.

Bürette *E* bis zur gewünschten Marke hinübergelassen werden. Das an *d* befestigte Kalirohr, das man außerdem auch noch mit dem Abzug verbinden kann, verhindert jede Belästigung durch verdunstende Blausäure. Durch *e* wird dann die Säure in das Reaktionsgefäß abgelassen.

Eine mit dem Vorratsgefäß verbundene Bürette[1]), die durch bloßes Neigen des Apparates gefüllt wird, zeigt Fig. 217. Eine ähnlich leicht nachfüllbare Bürette[2]) ist in Fig. 218 dargestellt; ihr Hahn ist so konstruiert, daß wohl der Bürettenraum, nicht aber der Vorratsraum mit der Außen-

[1]) *B. Tolmacz & Co.,* Verbesserter Titrierapparat. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 656 (1911).

[2]) *G. Müller,* Eine vereinfachte Sicherheits-Nachfüll-Bürette. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 147 (1912).

luft verbunden werden kann. Ein Verspritzen der Titrierflüssigkeit durch irrtümlich falsches Herumdrehen des Hahnes ist also völlig ausgeschlossen. (Ganz ähnliche Titrierapparate wurden schon früher vorgeschlagen.[1])

Von den vielen Titrierapparaten[2]), bei denen umgekehrt das Vorratsgefäß unterhalb des Bürettenrohres angeordnet ist (nach einem wohl ursprünglich von *O. Knöfler* stammenden Vorschlage), seien hier nur zwei Konstruktionen angeführt, die ebenso praktisch wie elegant zugleich automatische Nullpunktseinstellung aufweisen. Bei der einen[3]) (Fig. 219) ist die Nullpunktseinstellung nach dem Heberprinzip, bei der anderen[4]) nach dem — wohl etwas sicherer funktionierenden — Überlaufprinzip bewirkt. Die erstere Titriereinrichtung kann man sich ohne Mühe selbst herstellen.[5])

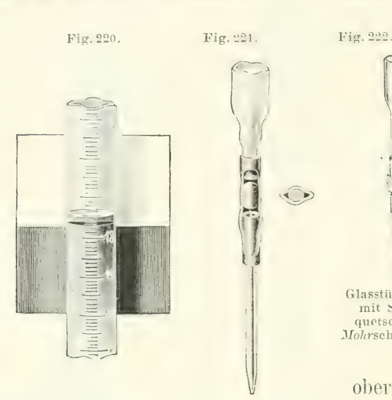


Fig. 220. *Mohr*sche Vorrichtung zum Ablesen von Büretten.

Fig. 221. Glasstückverschluß für *Mohr*sche Quetschhahnbüretten.

Fig. 222. Glasstückverschluß mit Schraubenquetschhahn für *Mohr*sche Büretten.

Die Vorratsgefäße von Titrierapparaten dürfen keine starre komplizierte Verbindung mit der Bürette haben, da man die Titrierflüssigkeiten häufig umschütteln muß, um eine etwa eingetretene Entmischung aufzuheben und die in den oberen Teil des Gefäßes destillierten Wassertröpfchen wieder mit der Lösung zu vereinigen. —

Bezüglich der Vorrichtungen, die dazu dienen, die Ablesung des Flüssigkeitsstandes in Büretten zu erleichtern, sei auf die Literatur[6]) verwiesen.

Nach *Sacher*[7]) ist der einfachste Behelf zur richtigen Ablesung ein kleiner Spiegel, den man an die Rückwand der Bürette anlegt; man

[1]) *Wulff*, Neue Nachfüllbürette. Apoth.-Ztg. Bd. **25**, S. 1004 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 45 (1911) und: *v. d. Heide*, Abfüllbürette. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 568 (1911).

[2]) Siehe z. B.: *F. Michel*, Automatische Universalbürette. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 595 (1912).

[3]) Nach dem Katalog Nr. 120 der „Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf" (Berlin N. 4), S. 294, Fig. 2591. — Vgl. auch die im Prinzip ganz ähnliche Bürette in: *Lunge-Berl*, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. 6. Aufl. 1910, Berlin (Jul. Springer), Bd. **1**, S. 66 (Fig. 36).

[4]) *Heintz*, Neue Bürette mit Nullpunktseinstellung. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 171 (1912), Fig. 2.

[5]) Titrierapparat nach Dr. *H. Waldeck*. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 387 und 542 (1912).

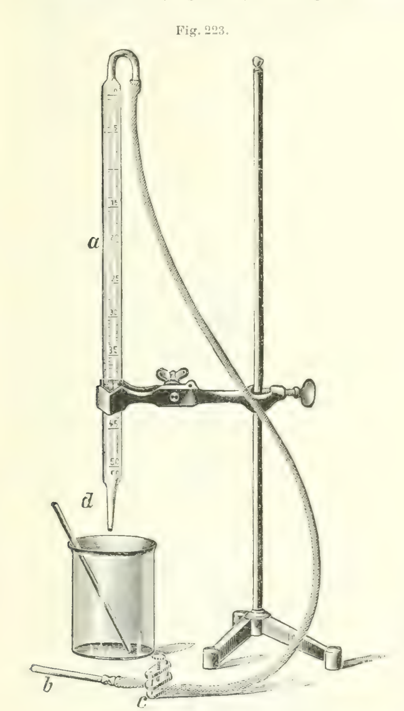
[6]) Siehe z. B.: Die Zusammenstellung bei *J. F. Sacher*, Über die einfachste Ablesevorrichtung für Büretten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 622 (1911).

[7]) loc. cit.

richtet dann den Flüssigkeitsmeniskus in der Bürette mit seinem Spiegelbilde genau aus. Dies wird noch wesentlich erleichtert, wenn man mit Hilfe eines Diamanten oder Hartstahls in den Spiegel eine feine horizontale Linie einritzt.

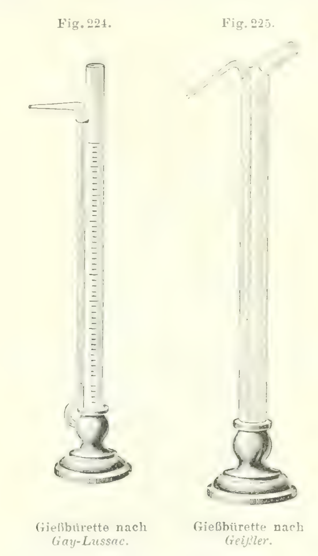
Jedoch gibt auch die ältere von *Fr. Mohr*[1]) empfohlene Vorrichtung zum Ablesen (Fig. 220) sehr gute Resultate. Man stellt sich diese Vorrichtung am einfachsten so her, daß man ein rechteckiges, auf der einen Seite weißes, auf der Rückseite schwarzes Kartenblatt von circa 5×6 *cm* Kantenlänge auf $^1/_3$ seiner längeren Seite so knifft und umbiegt, daß ein halb weißes, halb schwarzes Rechteck entsteht, wie es die Abbildung (in $^1/_2$ natürlicher Größe) zeigt.

Fig. 223.



Hahnlose Bürette.

Fig. 224. Fig. 225.



Gießbürette nach *Gay-Lussac*. Gießbürette nach *Geißler*.

Neben den Glashahn- und Quetschhahnverschlüssen ist noch der als recht praktisch gerühmte Glasstückverschluß[2]) zu erwähnen, dessen

[1]) Vgl.: *R. Fresenius,* Anleitung zur quantitativen chemischen Analyse. 6. Aufl. 1898, Bd. 1, S. 43.

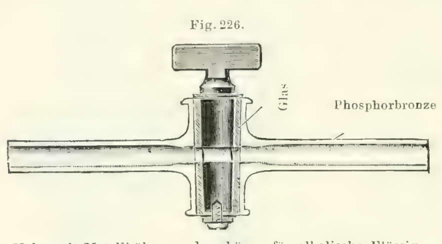
[2]) Zuerst von *R. Bunsen* als Verschluß bei gasanalytischen Arbeiten empfohlen; vgl.: *R. Bunsen,* Gasometrische Methoden. Braunschweig 1857, S. 13—14. — Siehe ferner: *R. Rieth,* Die Volumetrie oder chemische Maßanalyse. Bonn 1871, S. 13—14; *F. Mohrs*

einfache Anwendungsweise aus der Abbildung (Fig. 221) ohne weiteres ersichtlich ist. Auch in Verbindung mit einem Schraubenquetschhahn spezieller Konstruktion (Fig. 222) mag dieser Verschluß recht brauchbar sein.[1])

Eine eigentümliche Handhabung erfordert die in Fig. 223 dargestellte Bürette[2]), die den Hahn nicht an der Auslauf-, sondern an der Eingußseite trägt. Die Flüssigkeitssäule wird wie in Pipetten durch den äußeren Luftdruck gehalten, solange der enge Kanal am Hahnrohr geschlossen ist. Gefüllt wird die Bürette durch Einsaugen der Flüssigkeit.

Nicht bloß historisches, sondern auch praktisches Interesse verdienen noch heute die ebenfalls ganz hahnlosen Gießbüretten („Chamäleonbüretten") von *Gay-Lussac* (Fig. 224) und von *Geissler* (Fig. 225).[3]) — Namentlich für Titrationen mit alkalischen Flüssigkeiten sind Büretten mit Glashahn nicht zu empfehlen, weil sich an den Schliffflächen allmählich Wasserglas (Alkalisilikat)lösung bildet, die wie ein Kitt das Hahnküken fast unlöslich verklebt. Um diesen Übelstand zu vermeiden, kann man entweder die oben angeführten hahnlosen Bürettenformen oder eine *Mohr*sche Quetschhahnbürette anwenden oder endlich eine Bürette mit einem genau eingeschliffenen Hahn aus Phosphorbronze, Nickel oder Silber[4]) (Fig. 226). In diesen Hähnen besteht nicht nur das Küken aus Metall, sondern auch das Gehäuse, worin es sich dreht, und erst dieses ist in den unverändert gebliebenen Glaskörper gasdicht eingeschliffen. Diese Hähne sollen sogar gegen ein Vakuum dicht halten und werden daher auch sonst gelegentlich recht gute Dienste leisten können.

Fig. 226.



Hahn mit Metallküken und -gehäuse für alkalische Flüssigkeiten.

Lehrbuch der chemisch-analytischen Titriermethode von *A. Classen,* 7. Aufl., Braunschweig (F. Vieweg & Sohn) 1896, S. 8; *Lunge-Berl,* Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. 6. Aufl., Berlin (Jul. Springer) 1910, Bd. **1**, S. 61; *A. Classen,* Theorie und Praxis der Maßanalyse. Leipzig 1912, S. 85--86.

[1]) *K. Kling,* Eine neue Bürettentropfvorrichtung. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 100 (1910).

[2]) *W. Alexandrow,* Eine Bürette ohne Glashahn und ohne Kautschukverbindung. Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **49**, S. 436 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 329 (1910).

[3]) Vgl. *R. Fresenius,* Anleitung zur quantitativen Analyse. 6. Aufl., Braunschweig (Fr. Vieweg & Sohn) 1898, Bd. **1**, S. 44—46. — *Cl. Winkler,* Prakt. Übungen in der Maßanalyse, 3. Aufl. (1902), Leipzig (A. Felix), S. 21.

[4]) *Lassar-Cohn,* Arbeitsmethoden für organisch-chemische Laboratorien. 4. Aufl., Hamburg und Leipzig (L. Voss) 1906, Allg. Teil, S. 305.

Nachträge zum vierten Kapitel.

Mischen.

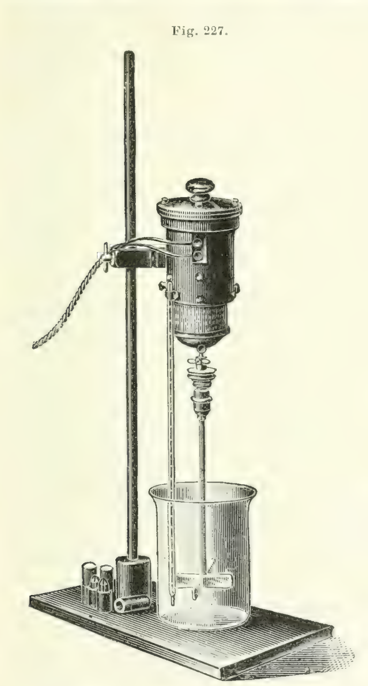
Vgl. Bd. I, S. 26—39.

I. Allgemeines. (Vgl. S. 26—28.)

Um ein Reaktionsgemisch mechanisch aufzulockern, kann man ihm gepulverten Quarz zusetzen.[1])

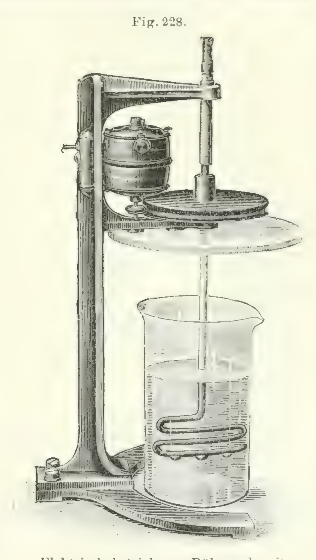
Bei chemischen Vorgängen zwischen gelösten Stoffen hängt die Reaktionsgeschwindigkeit oft vom Lösungsmittel ab, so daß dessen Wahl von praktischer Bedeutung sein kann.[2]) Besonders bei Halogenierungen scheint die Art des Lösungsmittels auf den Verlauf der Reaktion oft von großem Einfluß zu sein.[3])

Fig. 227.



Rührer mit direktem elektrischen Antrieb nach *Stähler*.

Fig. 228.



Elektrisch betriebenes Rührwerk mit direktem Antrieb nach *Hanfland*.

[1]) Vgl.: *M. Dittrich*, Über ein Hilfsmittel bei der Titration des Eisenoxyduls in Silikaten nach *Pebal-Dölter*. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 991 (1911).

[2]) Siehe z. B.: *H. v. Halban*, Die Rolle des Lösungsmittels in der chemischen Kinetik. I. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **67**, S. 129 (1909). — *L. Bruner* und *J. Vorbrodt*, Einfluß der Lösungsmittel auf die Verteilung der Isomere. Anzeiger Akad. Wiss. Krakau. 1909, S. 221; Chem. Zentralbl. 1909, I, S. 1807.

[3]) Vgl. u. a.: *A. Reissert*, Zur Chlorierung des α-Naphtols. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 866 (1911).

II. Motore.

Handliche Elektromotore, speziell zum direkten, transmissionslosen Antrieb von Rührern, befinden sich jetzt im Handel (Fig. 227). Sie sind zum Schutz vor schädlicher Laboratoriumsluft in eine dicht schließende Hülle eingebaut, können in jeder beliebigen Richtung direkt in ein eisernes Stativ eingespannt werden und lassen sich in ihrer Tourenzahl mittelst eines ebenfalls luftdicht eingebauten Vorschaltwiderstandes in weiten Grenzen (bis 2000 Umdrehungen pro Minute) beliebig regulieren.[1]) Die Betriebskosten eines solchen Motors dürften im allgemeinen weit niedriger sein als die eines Wassermotors, der an eine Druckwasserleitung angeschlossen wird. Ein ähnliches transmissionsloses, elektrisch betriebenes Rührwerk wurde schon früher vorgeschlagen [2]) (Fig. 228).

Ist im Laboratorium eine Preßluftleitung vorhanden, so lassen sich Wassermotore (*Rabe*sche Turbinen) auch mit Preßluft betreiben. Mittelst des Luftkompressors einer etwa vorhandenen Luftverflüssigungsmaschine kann man Luft in Stahlflaschen komprimieren, z. B. auf etwa 120 Atmosphären, wenn die Bomben auf 190 Atmosphären geprüft sind, und hat dann jederzeit mit Hilfe eines Reduzierventils komprimierte Luft unter beliebigem Druck zur Verfügung.[3]) Übrigens sind Bomben mit komprimierter Luft auch käuflich.

Infolge ihrer hohen Tourenzahl sind die Elektromotore und ebenso die Wasserturbinen zum direkten Antrieb von Rührern sehr geeignet, weniger gut geeignet dagegen aus demselben Grunde für Schüttelapparate. Denn in diesem Falle muß die große Umdrehungszahl durch ein Vorgelege (Bd. 1, S. 29, Fig. 44) erst verringert, d. h. der Weg in Kraft umgewandelt werden, was aus mehreren Gründen Nachteile mit sich bringt: Erstens geht hierbei infolge der Reibung der Radwellen in den Lagern viel Kraft verloren, zweitens bildet die als Transmission dienende, am besten lederne Peesenschnur einen wunden Punkt, da sie leicht reißt oder abspringt, und endlich vollführt das Vorgelege wegen der ruckweisen Bewegung des Schüttelschlittens einen ganz erheblichen Lärm, sobald die Lager nicht fest angezogen oder etwas ausgelaufen sind. Alle diese Nachteile eines Vorgeleges mit Transmission sprechen dafür, zum Betriebe von Schüttelmaschinen die langsamer laufenden und mindestens ebenso zuverlässigen Heißluftmotore zu verwenden. Diese können mittelst einer Exzenterstange mit dem Schüttelschlitten direkt gekuppelt werden (vgl. Bd. 1, S. 36, Fig. 64). Statt hierbei einen Schüttelwagen, der auf Schienen läuft, zu verwenden, empfiehlt es sich weit mehr, einen an vier Stahlbändern federnd aufgehängten Schütteltisch (vgl. Bd. 1,

[1]) *A. Stähler,* Elektrischer Rührapparat für präparative und analytische Zwecke. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1081 (1910).

[2]) *F. Hanfland,* Neuer Rührapparat. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 429 (1909).

[3]) *A. Stock,* Über die Leitungsanlagen in chemischen Instituten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1331 (1911).

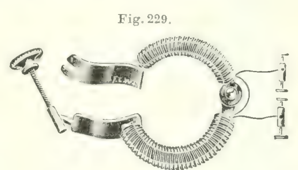
S. 36, Fig. 65) zu benutzen. Diese Konstruktion arbeitet geräuschloser und ist dauerhafter als jene.

Im Notfall genügt als Betriebskraft eines einfachen Motors Wasserdampf, den man aus einem Metallkessel entwickelt und mittelst eines gebogenen Glasrohrs gegen eine mit Schaufeln aus Zinkblech versehene und auf dem Stab eines Rührers konzentrisch angebrachte Korkscheibe richtet.[1])

Eine eigenartige Art, einen Rührer zu betätigen, der in einem unzugänglichen Glasgefäß sich in senkrechter Richtung auf und ab bewegen soll, besteht darin, daß man am oberen Ende des Rührerstabes ein Stück weiches Eisen befestigt und etwas oberhalb davon außen über das Glasgefäß eine starke Magnetisierspule schiebt. Läßt man diese einen intermittierenden Strom durchfließen, so wird der Rührer im Innern des Glasgefäßes im Takte eines einzuschaltenden Stromunterbrechers auf und ab tanzen.[2])

Schon früher wurde die gleiche Rührmethode von *Beckmann*[3]) dazu benutzt, bei Molekulargewichtsbestimmungen nach der Gefriermethode hygroskopische Flüssigkeiten unter Luftabschluß zu rühren. Der Rührer besteht aus einem oberen schmiedeeisernen Ring, der mit dünnem Platinblech dicht umgeben ist. Zwei mit Gold angelötete Platindrähte tragen je einen als Rührer dienenden flachen, wellenförmig gebogenen Ring aus Platinblech. Der Hals des Kühlgefäßes wird von den Polschuhen eines Elektromagnets (Fig. 229) umgeben. Als Stromquelle genügt ein Chromsäureelement von 1·7 Volt Spannung, das einen Strom von 1·7 Ampère erzeugt. Zur intermittierenden Stromunterbrechung kann ein Musikmetronom dienen, an dessen Achse sich zwei Drähte befinden, die durch abwechselndes Eintauchen in Quecksilbernäpfchen den Kontakt mit leicht zu regulierender Geschwindigkeit herstellen oder unterbrechen.

Fig. 229.



Elektromagnet zum Rühren nach *Beckmann*.

III. Rühren. (Vgl. S. 31—36.)

Zum Mischen plastischer Massen, z. B. zum innigen Vermengen von Rohkautschuk mit organischen oder anorganischen Füllstoffen, dient das „Mischwalzwerk".[4]) Es besteht aus zwei hohlen Walzen, die.

[1]) *D. H. B. Couman*, Ein einfacher mechanischer Rührer. Chem. News. Vol. **100**, p. 209 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 9 (1910).

[2]) *Franz Fischer* und *V. Froboese*, Über die fraktionierte Kristallisation und das Atomgewicht des Argons. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 97 (1911).

[3]) *E. Beckmann*, Beiträge zur Bestimmung von Molekulargrößen. IV. Neuerungen an den Apparaten. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **21**. S. 238 (1896).

[4]) Siehe z. B.: *B. Neumann*, Chemische Technologie und Metallurgie. Leipzig (S. Hirzel) 1912. S. 648.

horizontal in beliebig verstellbarem Abstand nebeneinander liegend, sich mit ungleicher Geschwindigkeit gegeneinander bewegen und eventuell geheizt oder gekühlt werden können. Man läßt die Massen immer von neuem durch die passend temperierten Walzen laufen, solange bis das Gemisch ganz homogen durchgeknetet erscheint.

Will man ein Gas in eine Flüssigkeit einleiten und gleichzeitig dabei rühren, so kann man den nebenstehend abgebildeten Apparat[1] (Fig. 230) anwenden. Eine ganz ähnliche Konstruktion wurde auch von anderer Seite[2]) vorgeschlagen, um beim Einleiten von Chlor in eine zu rührende Flüssigkeit jede Belästigung durch das Halogen zu verhindern (Fig. 231).

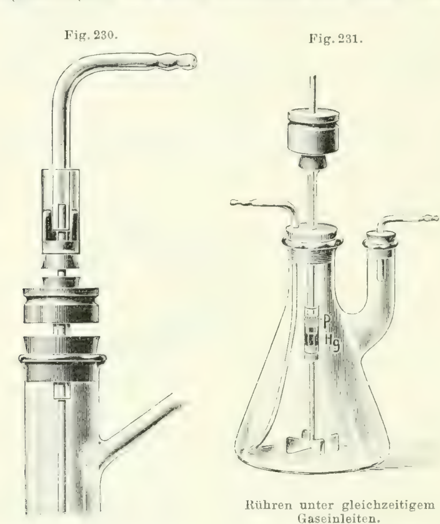


Fig. 230. Rühren unter gleichzeitigem Gaseinleiten.

Fig. 231. Rühren unter gleichzeitigem Gaseinleiten. P = Paraffinum liquidum, Hg = Quecksilber.

Oft wird die aufrührende Wirkung eines in eine Flüssigkeit geblasenen Gasstromes zum Durchmischen der Massen genügen. Um z. B. bei der Darstellung von Purin aus seinem Dijod-Derivat mittelst Zinkstaubs in wässeriger Lösung die Luft abzuhalten und gleichzeitig das Absetzen des Zinkstaubs zu verhindern, empfiehlt es sich, einen ziemlich kräftigen Strom von Kohlendioxyd durch das Reaktionsgemisch zu leiten.[3]) Ebenso bewährt sich dieses Rühren durch Gaseinblasen ausgezeichnet bei der quantitativen Metallabscheidung nach den elektrolytischen Schnellmethoden[4]); hier eignet sich zum Rühren am besten Wasserstoff, den man direkt elektrolytisch an den Elektroden erzeugen kann. Besonders groß

[1]) *K. Burkheiser* und *G. Christie,* Einfache Vorrichtung zum Einleiten von Gasen unter gleichzeitigem Umrühren der Reaktionsmassen durch eine Turbine. Zeitschr. f. chem. Apparatenkunde. Bd. **1**, S. 158 (1905); Chem. Zentralbl. 1906, I, S. 1073.

[2]) *O. Hauser* und *F. Wirth,* Eine Vereinfachung der *Mosander*schen Methode zur Abscheidung des Cers und der übrigen Ceriterden. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **48**, S. 689 (1909).

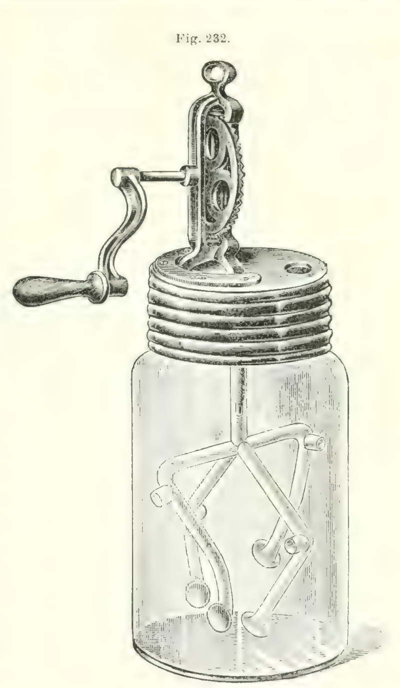
[3]) *Emil Fischer,* Über das Purin und seine Methylderivate. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **31**, S. 2564 (1898).

[4]) *Franz Fischer, C. Thiele* und *E. Stecher,* Schnellelektrolyse unter Rühren durch eingeblasene Gase. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 905 (1911).

und daher besonders wirksam werden die Gasblasen, wenn man bei vermindertem Druck arbeitet.[1] Auf einige kompliziertere Rührvorrichtungen speziell für elektrolytische Arbeiten sei hier nur hingewiesen.[2]

Eine Fülle neuer Vorschläge betrifft die konstruktive Ausbildung der mechanischen Rührer. Für manche Zwecke, z. B. zum raschen Eindampfen von Flüssigkeiten, die wegen der Ausscheidung fester Massen beständig gerührt werden müssen, mag ein Flügelrührer sehr geeignet sein, der außer den unten angebrachten Rührflügeln noch außerdem in Abständen von 5 bis 6 *cm* je zwei Flügel trägt, deren schiefe Flächen in entgegengesetzter Richtung zu den unteren stehen.[3] Die oberen Flügel können gegebenenfalls auch wohl als Luftschrauben zur rascheren Entfernung der Dämpfe dienen. Dem *Schultze*schen Rührer (vgl. Bd. 1, S. 32, Fig. 54) sehr ähnlich ist ein Rührer[4], der unten gabelförmig gestaltet ist und in dieser Gabel ein bewegliches Glaspendel trägt; die Schenkel sind ungleich lang und schwer, so daß das Pendel im Ruhezustand vertikal steht. Der Rührer kann daher bequem auch in sehr enghalsige Gefäße eingeführt werden. Denselben Zweck erfüllt auch ein Rührer, der aus einem Stab besteht, an dem lose herabhängende Glasketten befestigt sind.[5]

Fig. 232.



Rührvorrichtung nach *Leiser*.

---

[1] Dieselben, Schnellelektrolyse unter vermindertem Druck. Ebenda. S. 906.

[2] Gebr. *Raacke*-Aachen, Rührer für Stative zur Vornahme von quantitativen Analysen durch Elektrolyse unter Bewegung des Elektrolyten. D. R.-P. 243.761; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 165 (1912). — *F. Ott*, Die elektrolytische Reduktion der Niobsäure. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **18**, S. 351 (1912). — Vgl. auch: *A. Stähler*, Über elektroanalytische Schnellmethoden. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **16**, S. 551 (1910).

[3] *M. Kähler* und *Martini*, Über einige neue Laboratoriumsapparate. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **12**, S. 801 (1899).

[4] *O. Mittelbach*, Neuer Rührer für enghalsige Gefäße. Chem.-Ztg. Bd. **31**, S. 584 (1907).

[5] *S. Gutmann*, Eine neue Rührvorrichtung. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 637 (1910).

Ein mechanischer und gleichzeitig Luft (oder bei passender Einrichtung ein anderes Gas) ansaugender Rührer[1]) besteht aus einem Glasrohr, an das unten ein vierarmiges hohles Glaskreuz kommunizierend angeschmolzen ist. Bei genügend rascher Rotation wird unten die Flüssigkeit herausgeschleudert und dafür oben Luft angesaugt: also im Prinzip eine Umkehrung des *Segner*schen Wasserrades. Auch die durch Zentrifugalwirkung Flüssigkeit ansaugenden Rührer sind durch mannigfache neue Formen vermehrt worden. Besonders wirksam dürfte die vorstehend abgebildete Rührvorrichtung (Fig. 232) sein.[2]) Durch große Einfachheit zeichnet sich der von *Thiele*[3]) angegebene, ebenfalls auf der Wirkung der Zentrifugalkraft beruhende Rührer aus: er besteht aus einem rechtwinklig gebogenen, beiderseits offenem Glasrohre, das an der äußeren Seite des Knies ein Loch hat.

IV. Schütteln. (Vgl. S. 36—39.)

Für Titrationen, bei denen die zu titrierende Flüssigkeit andauernd geschüttelt werden muß (Silber-, Phosphor-, Magnesiabestimmung), wurde ein eigens hierzu geeigneter Schütteltisch angegeben.[4]) —

Während die bisher üblichen Schüttelapparate im Laboratorium gewöhnlich nur in einer Richtung, meist horizontal oder vertikal, die Arbeit des Schüttelns vollziehen, ahmt der nebenstehend abgebildete Apparat (Fig. 233) die Bewegungen des energischen Schüttelns mit der Hand möglichst vollkommen nach: der Tisch, welcher die zu schüttelnden Gefäße trägt, macht bei der Rotation der Antriebswelle sowohl eine drehende als auch gleichzeitig sich hebende und senkende Bewegung.[5])

Das Schüttelgefäß nach *Kempf* (Bd. 1, S. 38, Fig. 67 und 68) wurde ein wenig modifiziert[6]) (Fig. 234). Man kann mit Hilfe des abgeänderten Apparates Reaktionsgemische im Vakuum oder — unter Abschluß gegen die Luft — in der Atmosphäre eines beliebigen Gases bei jeder gewünschten Temperatur schütteln, jederzeit ohne Aufhebung des Vakuums oder des Luftabschlusses Reagenzien nachtragen und gleichzeitig eine etwa

[1]) *P. Barthel* und *M. Kleinstück*, Ein einfacher Rührer. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 848 (1910).

[2]) *H. Leiser*, Rührvorrichtung für schwer mischbare und spezifisch schwere Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 756 (1911). — Vgl. auch: Derselbe, Neuerungen in Laboratoriumsapparaten. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **19**. S. 1426 (1906) und: Zur Theorie eines neuen Rührers für Flüssigkeiten und geschmolzene Metalle sehr verschiedener Dichte, sowie für Flüssigkeiten und einen schweren Niederschlag. Zeitschr. f. chem. Apparatenkunde. Bd. **2**, S. 37 (1907); Chem. Zentralbl. 1907, I, S. 770.

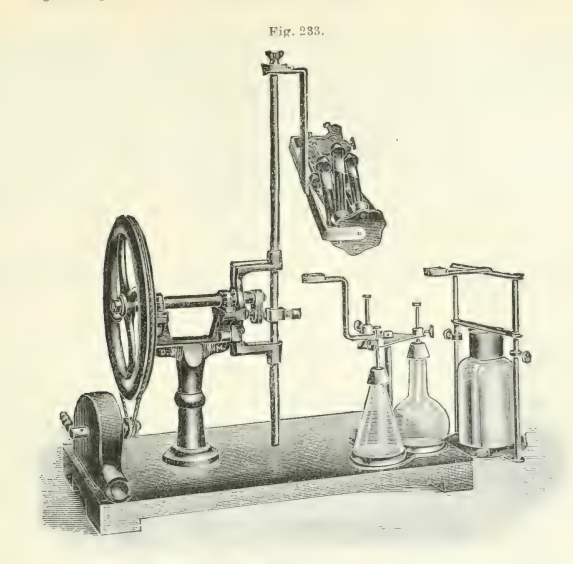
[3]) *Joh. Thiele*, Zur Kenntnis der ungesättigten Verbindungen. Über das feste Butadiendibromid. *Liebig*s Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. **308**, S. 339 (1899).

[4]) *L. W. Bahney*, Ein Schüttelapparat für Silber-, Phosphor- und Magnesiabestimmung. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **3**, p. 594 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 521 (1911).

[5]) *Warmbrunn, Quilitz & Co.*, Schüttelapparat. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 679 (1912). — Siehe auch: *F. Hanfland*, Neue Schüttelmaschinen. Chem.-Ztg. Bd. **32**, S. 1213 (1908).

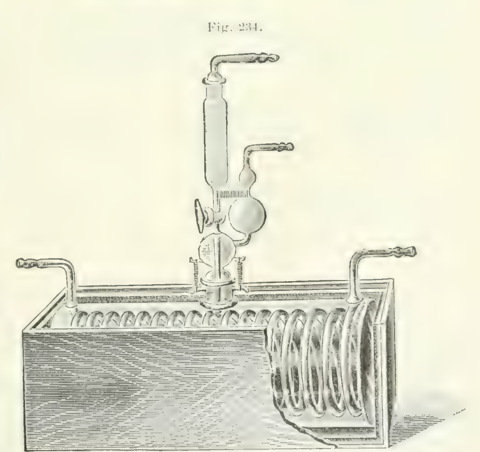
[6]) Vgl.: *F. W. Hinrichsen* und *R. Kempf*, Zur Frage der Hydrierung des Benzols. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **45**, S. 2106 (1912).

Fig. 233.



Schüttelmaschine.

Fig. 234.



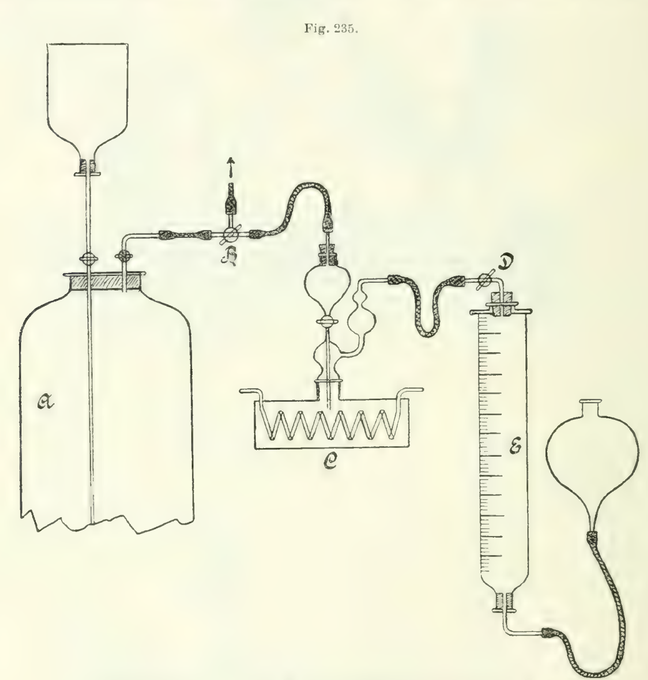
Schüttelgefäß mit Innentemperierung und Gasableitung nach *Kempf.* (Neue Form.)

eintretende Gasabsorption messend verfolgen. Die Vorrichtung leistet z. B. die besten Dienste beim Gebrauch der ebenso eleganten wie bequemen katalytischen Reduktionsmethoden nach *Fokin-Willstätter* (Bd. 4, S. 773), nach *Paal* (Bd. 4, S. 774) und nach *Skita*[1]) und dürfte sich auch bei Anstel-

[1]) *A. Skita,* Über die Reduktion von α, β-ungesättigten Ketonen und Aldehyden. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. 42, S. 1630 (1909). — *A. Skita* u. *H. H. Franck,* Über Alkaloidhydrierungen. (Reduktionskatalysen, V.) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. 44, S. 2862 (1911). — *A. Skita* und *C. Paal,* Verfahren zur Reduktion ungesättigter Verbindungen. D. R.-P. 230.724; Chem. Zentralbl. 1911, I, S. 522.

lung von Autoxydationsversuchen und überhaupt in allen Fällen, wo es sich um die Anlagerung eines Gases an eine Substanz handelt, als praktisch erweisen: indem man die Gasabsorption während des Schüttelns ständig messend verfolgt, ist man in der Lage, sich in scharfer und bequemer Weise fortlaufend über die Reaktionsgeschwindigkeit zu orientieren, ferner den Endpunkt des chemischen Prozesses mit aller Sicherheit festzustellen und endlich aus der absorbierten Gasmenge

Fig. 235.



Versuchsanordnung nach *Kempf* für Reduktionskatalyse oder dgl.

auf die Art der entstandenen Reaktionsprodukte zuverlässige Schlüsse zu ziehen. Eine bewährte Versuchsanordnung zeigt Fig. 235. Das Gasometer *A* enthält über einer geeigneten Sperrflüssigkeit das betreffende Gas (z. B. Wasserstoff über destilliertem Wasser) und steht über den Dreiweghahn *B* mit dem Schüttelgefäß *C* in Verbindung, das in einem mit Filz ausgekleideten Kästchen auf eine Schüttelmaschine gesetzt wird. Das Schüttelgefäß trägt eingeschliffen und mit Spiralfedern gesichert einen Tropftrichter und ein Kugelrohr; dieses ist mit dem einfach gebohrten Hahn *D* und weiterhin mit dem Litermeßzylinder *E* verbunden, der eben-

falls eine passende Sperrflüssigkeit enthält. Vom Dreiweghahn *B* führt eine Abzweigung über ein abgekürztes Quecksilbermanometer zu zwei parallel geschalteten Wasserstrahlpumpen nach *Finkener* oder einer anderen kräftig wirkenden Saugvorrichtung.[1])

Nachträge zum fünften Kapitel.

Kühlen und Heizen.

Vgl. Bd. I, S. 39—94.

I. Die Bedeutung der Temperatur bei chemischen Prozessen.

(Vgl. S. 39—41.)

Daß die Temperatur auch von wesentlichem Einfluß auf das biochemische Verhalten vieler Mikroorganismen ist, wurde vielfach festgestellt. Während die meisten Mikroorganismen sich am besten bei Bluttemperatur entwickeln, gedeihen andere am besten bei 60—70°, wieder andere bei Temperaturen unter 0°.[2])

Bei der alkoholischen Gärung bewirkt Temperaturerniedrigung nur eine Verlangsamung, keine Änderung des Ablaufes der chemischen Prozesse.[3])

Sehr gering pflegt der Einfluß der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit photochemischer Vorgänge zu sein. Während die gewöhnlichen chemischen Reaktionen nach der R. G. T.-Regel (Bd. 1, S. 40) im allgemeinen etwa 2—3mal so rasch verlaufen, wenn die Temperatur um 10° erhöht wird, beträgt der Temperaturkoeffizient photochemischer Prozesse nur 1—1·4.[4]) Verschwindend klein, wenn nicht gar gleich Null ist er bei der Zersetzung von Oxalsäure durch Uranylnitrat [$UO_2(NO_3)_2$] im Sonnenlicht: Die Zersetzungsgeschwindigkeit erwies sich bei 4° und bei 80° als nicht merklich verschieden.[5])

Dagegen übt die Temperatur bei photochemischen Reaktionen oft einen Einfluß auf die Einstellung des chemischen Gleichgewichtes aus, das in dem betreffenden System durch Temperaturänderung ganz wesentlich verschoben werden kann.[6]) —

---

[1]) Über Einzelheiten der Versuchsanordnung und ihre Handhabung siehe im übrigen: *F. W. Hinrichsen* und *R. Kempf*, l. c.

[2]) *E. F. Smith*, Das Verhalten von Mikroorganismen gegen niedere Temperaturen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1297 (1910).

[3]) *H. C. Gore*, Die Einwirkung niederer Temperaturen auf die Reifeprozesse von Früchten und auf den Gärungsprozeß von Cider. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 1119 (1910).

[4]) Vgl.: *J. Plotnikow*, Photochemische Studien. IV. Über den photochemischen Temperaturkoeffizienten von Brom. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 78, S. 573 (1912).

[5]) *L. Bruner* und *J. Kozack*, Zur Kenntnis der Photokatalyse. I. Die Lichtreaktion in Gemischen: Uransalz+Oxalsäure. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **17**, S. 357 (1911).

[6]) Siehe z. B.: *R. Luther* und *F. Weigert*, Über umkehrbare photochemische Reaktionen im homogenen System. Anthracen und Dianthracen. I. Zeitschr. f. physik. Chem.

Zweifellos völlig ohne Einfluß ist die Temperatur innerhalb der bisher erreichten Grenzen bei dem Atomzerfall radioaktiver Stoffe, wodurch allein schon diese Vorgänge aus dem Rahmen aller gewöhnlichen chemischen Reaktionen heraustreten.[1] Die Bildung von Uran X aus Uran verläuft bei 1000° und bei Zimmertemperatur mit gleicher Geschwindigkeit.[2] Auch die Zerfallsgeschwindigkeit der Radiumemanation, des aktiven Niederschlages und des RaC ist anscheinend von der Temperatur unabhängig.[3]

II. Kühlmittel. (Vgl. S. 41—47.)

Über das Arbeiten mit flüssigem Helium liegen weitere interessante Mitteilungen vor.[4] *Kamerlingh Onnes* gelang es, bis auf 1·8° an den absoluten Nullpunkt heranzukommen.[5] —

Wenn man von flüssiger Luft ausgeht, ist Wasserstoff sehr leicht zu verflüssigen, da nur ein Temperaturunterschied von 40° zu überwinden ist. Mit Hilfe eines nach dem Prinzip der *Linde*schen Kältemaschinen gebauten Apparates lassen sich 300 cm^3 flüssiger Wasserstoff pro Stunde gewinnen.[6]

Der flüssige Wasserstoff ist farblos. Er siedet bei — 252·5°. Sein spezifisches Gewicht ist erheblich kleiner als das aller anderen Flüssigkeiten, nämlich 0·07 (beim Siedepunkt). Da die Verdampfungswärme des flüssigen Wasserstoffes 200 Kalorien beträgt, also sehr groß ist, eignet er sich vorzüglich als Kühlmittel. Ein Kölbchen mit flüssigem Wasserstoff bedeckt sich auf der Außenseite mit flüssiger Zimmerluft, die alsbald fest wird.

Der Schmelzpunkt des festen Wasserstoffes liegt bei etwa 16° (abs.).[7] —

Bd. 51, S. 297 (1905). — *M. Padoa* und *G. Tabellini,* Die Temperaturkoeffizienten der phototropischen Umwandlungen. Atti R. Accad. dei Lincei, Roma (5), T. 21, II, p. 188; Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 1257.

[1]) Vgl.: *A. Stock,* Die experimentellen Ergebnisse anorganisch-chemischer Forschung im Jahre 1909. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 122 (1910).

[2]) Siehe z. B.: *R. W. Forsyth,* Der Einfluß der Temperatur auf die Entstehungsgeschwindigkeit von Uranium X. Philos. Magazine [6], Vol. 18, p. 207 (1909); Chem. Zentralbl. 1909, II, S. 899.

[3]) *A. S. Russel,* Der Einfluß der Temperatur auf den radioaktiven Zerfall. Proc. Royal Soc. London, Reihe A, T. 86, p. 240 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, I, S. 1278. — Vgl.: *W. Herz,* Die Fortschritte der physikalischen Chemie im ersten Halbjahre 1912. Chem.-Ztg. Bd. 36, S. 881 (1912).

[4]) Vgl.: *H. Kamerlingh Onnes,* Über die im Kältelaboratorium zu Leiden ausgeführten Untersuchungen. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 1373 (1910).

[5]) *H. Kamerlingh Onnes, van Bemmelen*-Festschrift. S. 441 (1910); Chem. Zentralblatt. 1911, I, S. 962.

[6]) *W. Nernst,* Ein einfacher Apparat zur Wasserstoffverflüssigung. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 606 (1911). — Derselbe, Über einen Apparat zur Verflüssigung von Wasserstoff. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. 17, S. 735 (1911). (Die Firma *Gebr. Hoenow* in Berlin O. 112 liefert den Apparat zum Preise von 250 Mk.)

[7]) Vgl.: *A. F. Holleman,* Lehrbuch der anorganischen Chemie. 5. Aufl. 1907, Leipzig (Veit & Co.), S. 16.

Um dem inneren Gefäß größerer *Dewar*scher Kolben mehr Halt zu geben, wurde vorgeschlagen, zwischen der inneren und äußeren Wandung am Boden oder in seiner Nähe Zwischenlagen anzubringen[1]) oder Glasstege an die Behälterwandungen anzuschmelzen.[2])

Um die Bruchgefahr zu vermindern, sind ferner aus Porzellan doppelwandige Vakuumgefäße (von 2 *l* Fassungsvermögen) hergestellt worden, die namentlich dem Bahnversand von flüssiger Luft zu dienen berufen sind.[3])

In einem zylindrischen vierwandigen Vakuumgefäß (aus Glas und unversilbert) betrug die Temperaturzunahme eines auf zirka -140^0 abgekühlten Pentan-Kältebades (siehe unten, S. 684/5) bei ruhigem Stehen etwa 1^0 in 3 Minuten.[4])

Mit einfacheren Mitteln als mit Hilfe der immerhin teuren und zerbrechlichen *Dewar*schen Gefäße lassen sich gute Isolationen gegen Wärmeausstrahlung in folgender Weise erreichen.[5]) Man benutzt gewöhnliche einfache Glasgefäße und verpackt sie in reine, trockene Wolle, wie man sie leicht als Abfall aus einer Kammgarnspinnerei erhalten kann. Um alle Motten und deren Eier zu töten, kann man die Wolle in einem Luftbade bei 100^0 trocknen. Vergleichende Versuche ergaben, daß reine trockene Wolle oder Eiderdaunen so gute Isolatoren sind, daß sie wahrscheinlich nur von den besten *Dewar*schen Röhren im Wärme-Isolierungsvermögen erreicht werden, hingegen die gewöhnlichen käuflichen Röhren wesentlich übertreffen. —

Um zu verhindern, daß der Stickstoff aus flüssiger Luft allein abdestilliert und deren Temperatur somit auf den Siedepunkt des Sauerstoffs (-184^0) ansteigt[6]), kann man das von *Stock* und *Nielsen*[7]) empfohlene Einblasen von Wasserstoff vornehmen. Jedoch ist diese Methode mit einigen Übelständen verknüpft. Sie ist zwar sehr wirksam, indem durch die beschleunigte Verdunstung eine starke Abkühlung erreicht wird, aber auch mit einem großen Verlust von flüssiger Luft verbunden, weil der ca. 200^0 wärmere Wasserstoff erst auf ihre Kosten abgekühlt werden muß, ehe er zur Wirkung gelangt; ferner findet auch trotzdem ein

---

[1]) *L. Haege,* Herstellung doppelwandiger sogenannter *Dewar*scher Flaschen mit Zwischenlagen zwischen der inneren und äußeren Wandung am Boden oder nahe dem Boden. D. R.-P. 220.533; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 257 (1910).

[2]) Vgl.: *O. A. Boehm, Dewar*sches Gefäß. Österr. Pat.-Anm. 4477; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 257 (1909).

[3]) *E. Beckmann,* Porzellanvakuumgefäß für flüssige Luft. Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. **22**, S. 673 (1909).

[4]) *E. Erdmann* und *H. Stoltzenberg,* Gasanalyse durch Kondensation. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 1704 (1910).

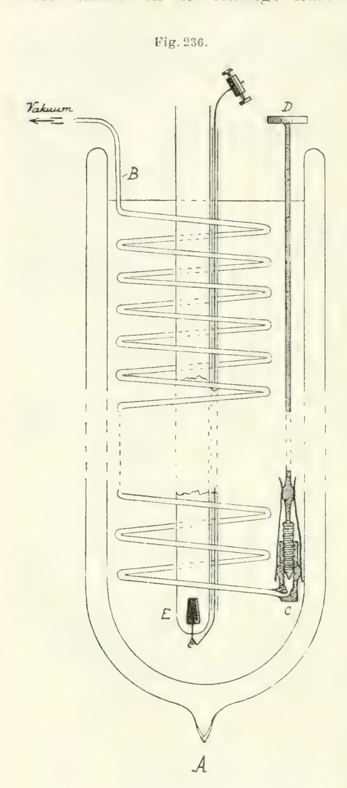
[5]) *W. Hempel,* Über das Arbeiten bei niederen Temperaturen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **31**, S. 2994 (1899).

[6]) Vgl.: *Franz Fischer* und *V. Froboese,* Über die fraktionierte Kristallisation und das Atomgewicht des Argons. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 94 (1911).

[7]) *A. Stock* und *C. Nielsen,* Über Mischungen von flüssigem Sauerstoff und Stickstoff. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **39**, S. 3394 (1907).

fraktioniertes Absieden statt. Um diese Nachteile des Verfahrens zu vermeiden, empfiehlt es sich, die folgende Einrichtung (Fig. 236) zu benutzen.[1]) Eine Spirale *B* aus Messingrohr von ca. 3 *m* Länge und 1 *mm* innerer Weite taucht in die flüssige Luft, die sich in dem durchsichtigen *Weinhold*schen Gefäß *A* befindet, und umgibt das zu kühlende Reaktionsgefäß *E*. Bei *C* besitzt die Spirale einen mittelst der Schraube *D* regulierbaren Verschluß, durch den Luft eintreten kann, wenn man das andere Ende mit einer Vakuumleitung verbindet. Wird am oberen Ende der Spirale gesaugt, so spritzt in diese flüssige Luft hinein, verdunstet rasch und entzieht dadurch der äußeren flüssigen Luft Wärme. Auf diese Weise wird die flüssige Luft unter ihren Siedepunkt abgekühlt; die Geschwindigkeit, mit der die Abkühlung bewirkt wird, hängt von der Höhe des erzeugten Vakuums ab. An den oberen, aus der Flüssigkeit herausragenden Teilen der Spirale kondensiert sich die Zimmerluft und fällt in Tropfen herab. Die Luft behält so ihre ursprüngliche Zusammensetzung und bleibt farblos, während sie sich sonst mit der Zeit infolge der Anreicherung von Sauerstoff blau färbt. —

Fig. 236.



Apparat zum Kühlhalten flüssiger Luft nach *Franz Fischer* und *Schröter*.

Gelegentlich kann flüssiger Sauerstoff an Stelle von flüssiger Luft den Vorzug als Kühlmittel verdienen.[2]) —

Um mit Hilfe von flüssiger Luft Kältebäder von etwas weniger niedrigen Temperaturen herzustellen, kann man außer in der schon beschriebenen Weise (vgl. Bd. 1, S. 43) nach *Ruff* und *G. Fischer*[3]) folgendermaßen verfahren. Man füllt eine *Weinhold*sche Vakuumschale zur Hälfte mit

[1]) *Franz Fischer* und *F. Schröter*, Neue Untersuchungen über die Verbindungsfähigkeit des Argons. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**. S. 1448 (1910). — Vgl. auch *F. Fischer* und *V. Froboese*, l. c. S. 97.

[2]) Vgl. z. B.: *E. Erdmann* und *H. Stoltzenberg*, Gasanalyse durch Kondensation. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 1705 (1910).

[3]) *O. Ruff* und *Georg Fischer*, Über die Chloride des Schwefels, insbesondere das sog. Schwefeldichlorid. Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. **36**, S. 429 (1903).

flüssiger Luft und trägt unter ständigem Rühren mit einem Holzstab portionsweise Pentan ein, bis die verflüssigte Luft verdunstet ist (umgekehrt flüssige Luft in Pentan einzutragen empfiehlt sich nicht). Man setzt dann noch soviel Pentan hinzu, bis die gewünschte Temperatur erreicht ist. Diese hält sich in vierwandigen *Dewar*schen Gefäßen geraume Zeit hindurch ziemlich konstant (vgl. oben).[1] — Ebenfalls konstante Temperaturen (bei Anwendung von flüssiger Luft bis —140°) erhält man mit Hilfe eines besonderen Apparates, in welchem Pentan durch Einleiten von Wasserstoff in kreisende Bewegung gesetzt wird.[2])

Nach der flüssigen Luft kann als nächst wärmeres Bad konstanter Temperatur fester, schmelzender Äther dienen. Man erreicht so eine dauernde Temperatur von — 117·3°.[3])

Die Gewinnung festen Kohlendioxyds aus der Bombe, wie sie zuerst von *Landolt* angegeben wurde[4]), ist die rationellste Art, wie man sich Kühlbäder aus festem Kohlendioxyd (bis zu Temperaturen von etwa — 79°) herstellen kann.[5]) Man erhält so aus 1000 *g* flüssigen Kohlendioxyds 270—300 *g* festes. Mit einem Gemisch von festem Kohlendioxyd und Alkohol gelangt man zu etwa — 78·3°.[3]) Nach *Hempel*[5]) kann man auf das feste Kohlendioxyd auch soviel Äther gießen, daß ein nicht zu steifer Brei entsteht; man erreiche so die tiefsten Temperaturerniedrigungen. Dabei entstehen kristallisierte Verbindungen des festen Kohlendioxyds mit wasserhaltigem Äther (ähnlich verhält sich Alkohol[6]).

Ebenso wie Alkohol und Äther ist auch Azeton zur Herstellung eines Kältebades mit festem Kohlendioxyd geeignet. Ein Gemisch von 50 *g* festem Kohlendioxyd-Schnee und 150 *g* Azeton ergab eine Temperatur von — 63° und brachte ½ *kg* Quecksilber in 2½ Minuten zum Erstarren.[7])

Als Fixpunkte für tiefe Temperaturen unterhalb 0° wurden die folgenden Schmelzpunkte bzw. Siedepunkte angegeben[8]):

Quecksilber	— 38·7°
Kohlendioxyd mit Äther oder Alkohol . . .	— 78·3°
Äther . . . . —116° bzw.	— 123·3°
Isopentan	— 158°
Flüssiger Sauerstoff (Siedepunkt)	— 183°

[1]) *E. Erdmann* und *H. Stoltzenberg*, l. c.

[2]) Siehe im übrigen: *H. Stoltzenberg*, Über die Verwendung des Schmelzpunktsapparates für tiefe Temperaturen als leicht regulierbares Kältebad im physikalisch-chemischen Laboratorium. Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. **71**, S. 649 (1910).

[3]) *E. Erdmann* und *H. Stoltzenberg*, l. c.

[4]) Vgl.: *R. Pribram*, Nekrolog auf *H. H. Landolt*. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 3365 (1911).

[5]) Über die Einzelheiten siehe: *W. Hempel*, Über das Arbeiten bei niederen Temperaturen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **31**, S. 2996 (1899).

[6]) *W. Hempel* und *J. Seidel*, Über Verbindungen des Kohlendioxyds mit Wasser, Äthyläther und Alkoholen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **31**, S. 2997 (1899).

[7]) *J. O. Handy*, Eine bequeme Methode der Kältebehandlung. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 282 (1910).

[8]) *J. Timmermans*, Über die Wahl einer genauen Reihe von niederen Temperaturen bis —150°. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 517 (1911).

Äther scheint dimorph zu sein, da die eine der Kristallformen bei etwa —116°, die andere bei —123° schmilzt. Die erstere ist die stabile Form: sie entsteht durch rasche Abkühlung. Die andere nicht stabile Form bildet der Äther beim langsamen Erkalten.[1] —

Eine eigenartige Methode[2], ein Kühlbad zu erhalten, besteht darin, daß man Schwefelkohlenstoff und Azeton miteinander mischt. Man führt diese beiden Flüssigkeiten durch zwei lange, etwa 1 *mm* weite Röhren bis an den Punkt, wo sie sich mischen sollen, und zwingt das Gemisch sodann, an der Außenseite der Röhren ihrer ganzen Länge nach zurückzufließen. Mit Hilfe dieser Anwendung des Gegenstromprinzips erzielt man mit einer geringen Menge von Flüssigkeit (1—2 Tropfen pro Sekunde) eine Temperatur von —48°. Einmal reguliert, ermöglichen derartige Apparate die Temperatur stundenlang nahezu konstant zu halten. Mit einem Verbrauch von 100 cm^3 Schwefelkohlenstoff und 70 cm^3 Azeton pro Stunde kann man in einem Volumen von 20 cm^3, das durch ein doppelwandiges, versilbertes Gefäß vor Wärmeverlusten geschützt ist, dauernd eine Temperatur von —43·5° aufrecht erhalten. —

Zur dauernden Heißwasserbereitung wurde ein kleiner Laboratoriumsapparat beschrieben, den man sich mit einfachen Mitteln selbst zusammenstellen kann.[3]

III. Heizquellen. (Vgl. S. 47—55.)

1. Chemisches Heizen. (S. 47—54.)

Von den Wärmequellen, die schon von dem Chemiker früherer Jahrhunderte für die Laboratoriumspraxis ausgenutzt wurden, werden die biochemischen Heizmethoden, wie sie die Verwendung von faulendem Pferdemist und der Wärme eines Ameisenhaufen darstellen[4], heute wohl nur noch bei gärtnerischen Arbeiten (Mistbeete) angewendet, wohl aber ist die zweite alte Heizmethode, nämlich die Sonnenwärme[5] direkt als Wärmequelle zu benutzen, wieder modern geworden, seitdem ein Sonnenvakuumofen konstruiert worden ist[6] (Fig. 237). Diese Heizvorrichtung bedient sich einer Glaslinse zur Konzentration der Sonnenstrahlen, wie ja u. a. bereits *Ehrenfried Walther v. Tschirnhaus*, der Erfinder des sächsischen Porzellans, um 1700 Brennspiegel von fast 2 *m* Durchmesser dazu

---

[1]) *J. Timmermans*, Über den Gefrierpunkt organischer Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 881 (1911).

[2]) *J. Duclaux*, Kältemischungen. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **151**, p. 715 (1910); Chem. Zentralbl. 1910, II, S. 1942.

[3]) *G. E. Boltz*, Vorrichtung zur dauernden Heißwasserbereitung. Journ. Americ. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 514 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 253 (1911).

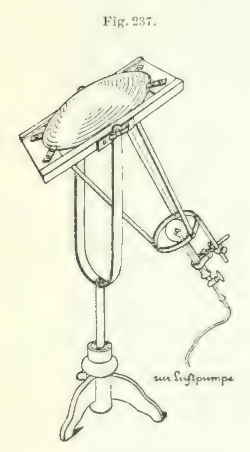
[4]) Vgl.: *F. Henrich*, Über alte chemische Geräte, Öfen und Arbeitsmethoden. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 198 und 214 (1911).

[5]) *F. Henrich*, l. c. S. 214.

[6]) *A. Stock* und *H. Heynemann*, Die Sonne als Wärmequelle bei chemischen Versuchen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **42**, S. 2863 (1909).

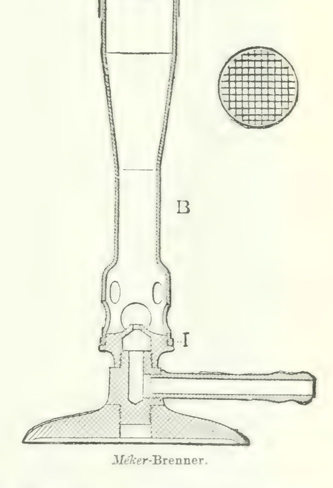
verwandte, Asbest zu glasigen Massen zusammenzuschmelzen und zum ersten Male in Europa Geräte aus Porzellan herzustellen.[1]) Der neue Sonnenofen unterscheidet sich von allen früheren dadurch, daß der Brennpunkt der Konvexlinse oder des Konkavspiegels in ein absolutes Vakuum verlegt ist. Die zu erhitzende Substanz befindet sich in der Mitte eines vollständig luftleer gemachten dünnwandigen Rundkolbens aus Glas. Die durch eine plankonvexe Linse von 40 *cm* Durchmesser und 50 *cm* Brennweite gesammelten Sonnenstrahlen durchdringen als breites Büschel die Glaswand, welche sie dank dem kleinen Wärmeabsorptionsvermögen des Glases nur schwach erhitzen, und vereinigen sich erst auf der Substanz.

Fig. 237.



Sonnenvakuumofen nach *Stock*.

Fig. 238.



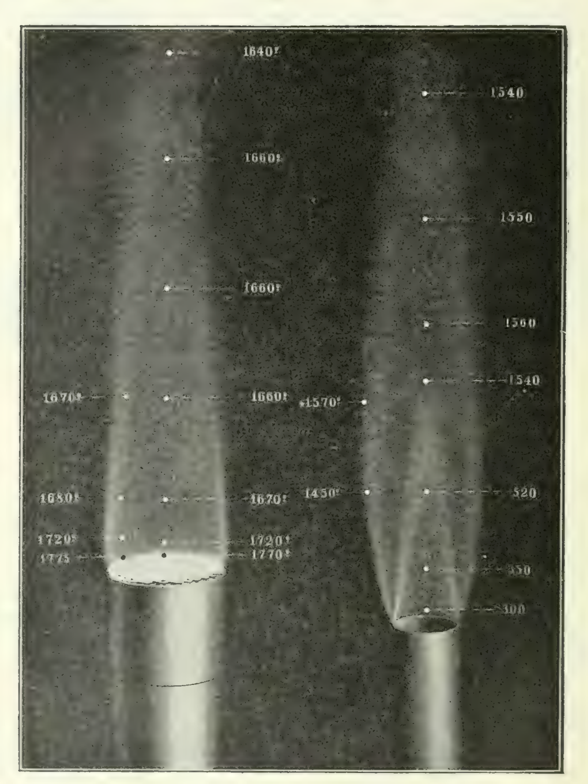
Méker-Brenner.

Ganz allein diese wird erhitzt, kein Teil des Apparates wird unnötig geglüht. Infolge des Vakuums ist der Wärmeverlust durch Leitung (wie in den *Weinhold-Dewar*schen Gefäßen) auf ein Minimum beschränkt. Mit einem kleinen vorläufigen Modellofen gelang es z. B., geringe Mengen kristallisiertes Silizium (Schmp.: 1450°) im Vakuum in wenigen Sekunden zusammenzuschmelzen. Die Temperatur der Sonne beträgt etwa 6000 bis 7000°.

[1]) Vgl.: *H. Peters*, Zur Streitfrage über den Porzellanerfinder. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 889 (1911). — Ferner: Derselbe, E. W. v. Tschirnhaus, Erfinder des sächsischen Porzellans. Ebenda. Bd. **32**, S. 789, 802 und 921 (1908). — Siehe auch: *F. Strunz*, Die Erfindung des europäischen Porzellans. Österr. Chem.-Ztg. Bd. 15, S. 175 und 187 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 501 (1912). — Der Brennspiegel als Heizquelle war schon im Altertum bekannt. — Über das „Sonnenbad“ und die „Destillatio solis“ siehe auch: *Gildemeister* und *Hoffmann*, Die ätherischen Öle. 1899, S. 103 und 109.

Von den mancherlei Neuerungen, die bezüglich des Bunsenbrenners vorgeschlagen wurden, seien hier nur einige erwähnt. — Um die Flamme in beliebiger Höhe über dem Tisch brennen lassen zu können, wurden

Fig. 239.



Flammentemperaturen eines *Méker*-Brenners (links) und eines gewöhnlichen Bunsenbrenners (rechts).

Verlängerungseinsätze für die Brennerröhre konstruiert, die man auf diese Weise bequem bis auf 110 *cm* Höhe verlängern kann.[1])

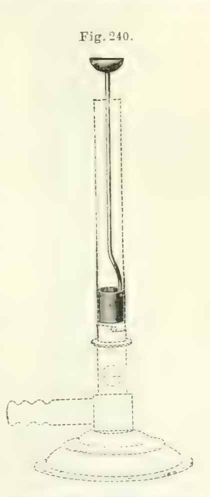
Das Mischrohr des Bunsenbrenners erfüllt seinen Zweck am besten, wenn es sich nach oben konisch erweitert, entsprechend dem sich ver-

[1]) *Ph. Blackman,* Ein auf beliebige Höhen einstellbarer Brenner. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 78 (1912).

größernden Gasstrom. Diese Forderung erfüllt der *Méker*-Brenner[1] (Fig. 238), der daher die innigste Mischung des Gases mit der Luft bewirkt und in dieser Beziehung den *Teclu*-Brenner noch übertrifft[2] (vgl. hierzu Fig. 239).

Um auf bequeme Weise eine bestimmte Heizwirkung mit einem Bunsenbrenner erzielen und die Einstellung dazu stets wiederfinden zu können, wurde am Hahn des Brenners ein über einer Skala spielender Zeiger angebracht, der es ermöglicht, sowohl die zugeführte Gas- wie Luftmenge stets in gleicher, beliebig bestimmter Stärke zu dosieren.[3] Hat man z. B. mit diesem Brenner einmal ausprobiert, welche Zeigerstellungen den einzelnen Temperaturen, die in einem bestimmten Trockenschrank sich bei verschiedener Flammenhöhe einstellen, entsprechen, so ist das Einregulieren des Luftbades auf eine bestimmte Temperatur stets mühelos zu erreichen. Vorausgesetzt ist dabei allerdings, daß der Druck in der Gasleitung konstant bleibt, was man erforderlichenfalls durch Einschaltung eines Druckregulators[4] erreicht (vgl. auch Bd. I, S. 66).

Fig. 240.



Spektralbrenner-Einsatz nach *Precht*.

Von den vielen schon vorgeschlagenen Spektralbrennereinrichtungen sei auf eine besonders einfache und wirksame Konstruktion aufmerksam gemacht[5] (Fig. 240). Ihr großer Vorzug vor anderen Spektralbrennern besteht darin, daß der Flamme das Salz von innen zugeführt wird. Jede Abkühlung der Flamme durch Wärmeableitung nach außen ist dadurch vermieden. Was durch den das eiserne Schälchen tragenden Draht an Wärme abgeleitet wird, bleibt im Brennerrohr und kann nur eine für die Flammentemperatur günstige Vorwärmung des Gases zur Folge haben. Bezüglich der bewährten Spektralbrenner nach *Beckmann*[6] sei auf die Literatur verwiesen (siehe auch dieses Handbuch, Bd. V, 2. Teil, S. 1051 ff.).

---

[1]) D. R.-P. 159.981; vgl. den Prospekt der Firma *P. F. Dujardin & Co.*, Düsseldorf, über Gasbrenner und Gasöfen für hohe Temperaturen nach *Méker*.

[2]) *H. Strache*, Altes und Neues vom Bunsenbrenner. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 563 (1912).

[3]) *L. Schmitz*, Gasbrenner mit genau einstellbarer Regulierung für Gas- und Luftmenge. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 11 (1910).

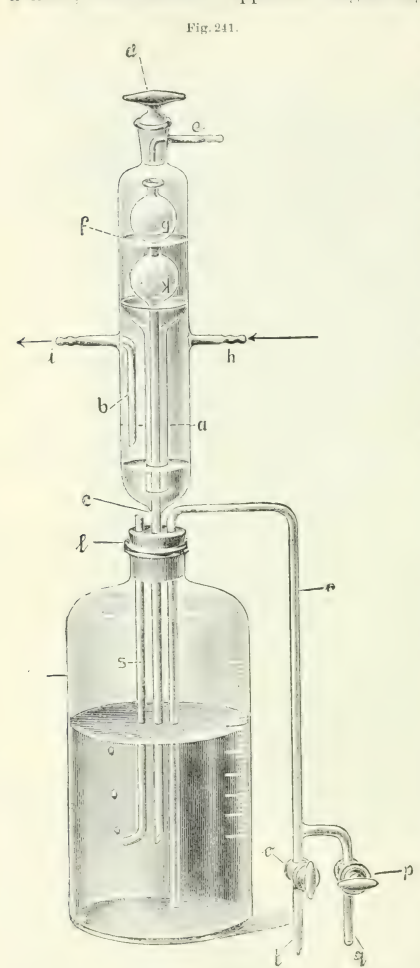
[4]) Vgl. z. B.: *A. Martens* und *M. Guth*, Das königl. Materialprüfungsamt der Technischen Hochschule Berlin. Berlin (Jul. Springer). 1904. S. 219. — *S. H. Collins*, Vorrichtung zur Erzielung eines gleichmäßigen, einstellbaren Gasstromes und ein empfindlicher Thermostat. Chem. News. Vol. **105**. p. 244 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**. Rep. S. 365 (1912) und Zeitschr. f. Instrumentenkunde. Bd. **32**, S. 305 (1912).

[5]) *J. Precht*, Spektralbrenner-Einsatz. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 67 (1910).

[6]) Siehe z. B.: *E. Beckmann*, Färben von Flammen für das analytische Praktikum. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **20**, S. 561 (1907). — Derselbe, Analysenbrenner aus Porzellan. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 1515 (1912). — Derselbe, Natriumlampen für Polarisation. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. **45**, S. 2523 (1912).

Um eine Gasleitung nach beliebiger Zeit automatisch abstellen zu können, sind mehrere Apparate vorgeschlagen worden. Die eine Konstruktion bedient sich einer einfachen, billigen Weckeruhr.[1]) Zu dem Zeitpunkt, auf den die Weckvorrichtung eingestellt ist, schließt sich automatisch der Gashahn.[2]) Derselbe Zweck läßt sich mit Hilfe der in Fig. 241 abgebildeten Vorrichtung erreichen.[3]) Bei *h* wird das Leuchtgas ein-, bei *i* zum Brenner abgeleitet. Man läßt aus der feinen Öffnung *t* das Wasser in der *Mariotte*schen Flasche *m* tropfenweise in solchem Tempo ausfließen, daß nach der gewünschten Zeit der Wasserspiegel in der Flasche so tief gesunken ist, daß die untere Öffnung des mittelsten Rohres *(c)* frei wird. Dann dringt Luft in *f* ein, das Wasser in *f* sinkt nach *a* zurück und sperrt den Gasstrom ab. Die Einstellung des Apparates erfolgt durch Ausprobieren mit Hilfe einer an der Flasche angebrachten Teilung.

Fig. 241.



Apparat zum selbsttätigen Gasabschluß nach bestimmter Zeit nach *Schirm*.

[1]) *H. Michaelis*, Automatischer Gasverschluß. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **15**, S. 1397 (1882). — Vgl.: *D. Holde*, Untersuchung der Mineralöle und Fette. 3. Aufl., 1909, Berlin (Jul. Springer), S. 161.

[2]) Einen sehr praktischen Gasabsperrhahn, der an jede beliebige Weckeruhr der gewöhnlichen Art ohne weiteres angefügt werden kann, gab *Bass* an. Vgl.: *R. Bass*, Einfacher automatischer Gaslöscher. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 865 (1912).

[3]) *E. Schirm*, Sicherheitsapparat gegen zu weit gehendes Eindampfen und Abdestillieren nebst Vorrichtung für selbsttätigen Gasabschluß nach bestimmter Zeit. Zeitschrift f. analyt. Chem. Bd. **51**, S. 300 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, I, S. 1414.

Eine Vorrichtung, welche automatisch Gashähne schließt, sobald aus irgend einem Grunde die Wasserleitung unvorhergesehen abgesperrt wird, hat *Michaelis*[1]) angegeben. —

Um einen gewöhnlichen Bunsenbrenner in ein kleines Gebläse (z. B. für Lötrohrversuche) zu verwandeln, wurde vorgeschlagen, am Brennerrohr ein nach allen Seiten verstellbares Metallrohr mit Specksteinspitze so zu befestigen, daß ein mittelst Handgebläse erzeugter und durch das Metallrohr getriebener Luftstrom die Flammenbasis trifft.[2]) Einen ähnlich einfachen und bequemen Lötrohrapparat gab *Borkowsky* an.[3])

Ein Gasgebläse mit leicht auswechselbaren Düsen verschiedener Weite mag beim Glasblasen für manche Zwecke recht praktisch sein.[4])

Auf einige neue Thermitmischungen zur Erzeugung hoher Hitzegrade sei hier nur hingewiesen.[5])

2. Physikalisches Heizen (S. 54—55).

Auch Nickeldraht[6]) oder besser Draht aus einer Legierung von 80—90% Nickel und 10—20% Chrom[7]) („*Hoskins* Widerstandsdraht") ist ein gutes Widerstandsmaterial für elektrische Heizung bis zu Temperaturen von etwa 1000°. Ferner ist Wolframdraht (vgl. oben, S. 643) für elektrische Widerstandsöfen sehr geeignet.[8])

Über Silundum als elektrisches Widerstandsmaterial siehe die Literatur.[9])

Die Heizung mit elektrischen Glühlampen hat wegen ihrer Bequemlichkeit und Sauberkeit vielfach weitere Anwendung gefunden.[10]) Vor

---

[1]) *H. Michaelis,* Automatischer Gasverschluß beim Absperren der Wasserleitung. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **30**, S. 282 (1897).

[2]) *G. Suida,* Ein neuer Lötrohrapparat. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 393 (1911).

[3]) *Warmbrunn, Quilitz & Co.*, Neues Universal-Lötrohrstativ nach *Borkowsky*. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 855 (1912).

[4]) *Warmbrunn, Quilitz & Co.*, Revolver-Gasgebläse. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 271 (1912).

[5]) Siehe: *F. J. Tone* und *Carborundum Comp.*, Niagara Falls. Mischung zur Erzeugung hoher Hitzegrade. V. St. Amer. Pat. 939.930 und 939.570; Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 644 (1909).

[6]) *Le Blanc,* Laboratoriumsofen mit elektrisch geheiztem Nickeldraht. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 640 (1909).

[7]) *P. Askenasy,* Ein neues Widerstandsmaterial für elektrische Öfen. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 640 (1909). — Derselbe, Über den Hoskins-Widerstandsdraht, Ebenda. S. 713. — Siehe ferner: *W. H. Roß,* Ein elektrischer Erhitzer für Ätherextraktionen. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **3**, p. 929 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 165 (1912). — *R. C. Benner,* Wie macht man einen elektrischen Laboratoriumsofen? Min. and Eng. World. Vol. **36**, p. 1051 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 429 (1912).

[8]) Vgl.: *C. G. Fink-Harrison,* Neue Anwendungen von duktilem Wolfram. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1144 (1912).

[9]) Z. B.: *W. Hempel,* Erfahrungen mit elektrischen Öfen. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **23**, S. 290 (1910). — *F. Böck,* Einige Neuerungen in der technischen Anwendung der Kieselsäure. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 232 (1911).

[10]) *Ch. F. Fischer,* Elektrisch geheizter Brutschrank. Journ. Ind. and Eng. Chem. Vol. **1**, p. 480 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 450 (1909). — *F. Hanfland,* Neuer elektrischer Thermostat. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 256 (1910). — *M. M. Mac Lean,* Ein

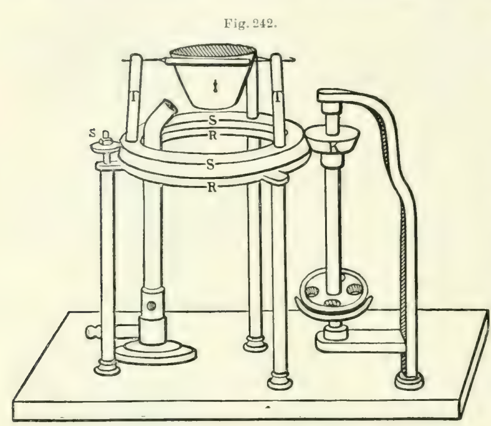
Thilo[1]) schlug diese Methode bereits *Richards*[2]) und ferner fast gleichzeitig *Hopkins*[3]) vor.

IV. Schutzmaßregeln beim Erhitzen gläserner Geräte.

(Vgl. S. 55—58.)

Wenn Substanzen in einem Tiegel sehr gleichmäßig erhitzt werden müssen, jede lokale Überhitzung schädlich ist, kann man eine Vorrichtung benutzen, bei der die Flamme den langsam rotierenden Tiegel seitlich trifft[4]) (Fig. 242).

Fig. 242.



Apparat zur sicheren und gleichmäßigen Veraschung nach *Hodes* und *Göbel*.

Der Apparat eignet sich für Veraschungen von Nahrungsmitteln, Zucker, Glyzerin, zum Abrauchen von konzentrierter Schwefelsäure und anderen hochsiedenden Flüssigkeiten, zum Rösten von Sulfiden und ähnlichen Substanzen, bei denen der Zutritt von Luftsauerstoff nötig ist, zum quantitativen Eindampfen von Lösungen usw. — Ein ganz ähnlicher Apparat ist bereits früher angegeben worden.[5])

Als saubere Heizplatten, namentlich zum Erhitzen von Platintiegeln, eignen sich die übrig gebliebenen Deckel von Porzellantiegeln.[6]) Man schlägt

---

guter Trockenofen. Journ. Ind. and Eng. Chem. Vol. **2**, p. 480 (1910). — *R. v. d. Heide*, Verbesserter Rapidkühler und Extraktionsapparat. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 531 (1911). — Vgl.: *W. Thörner*, ebenda, S. 597.

[1]) *E. Thilo*, Ein elektrischer Heizapparat für gefahrloses Abdestillieren von Äther. Chem.-Ztg. Bd. **25**, S. 685 (1901).

[2]) *Th. W. Richards*, Ein elektrischer Trockenofen. Amer. Chem. Journ. Vol. **22**, p. 45 (1899); Chem. Zentralbl. 1899, II, S. 505.

[3]) *C. G. Hopkins*, Die elektrische Glühlampe als Heizquelle bei Ätherextraktionen. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **21**, p. 645 (1899); Chem. Zentralbl. 1899, II, S. 577.

[4]) *Hodes* und *Göbel*, Apparat zur sicheren und gleichmäßigen Veraschung. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 488 (1911).

[5]) *E. J. Aps*, Ein neuer Apparat zur sicheren und langsamen Veraschung. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1374 (1910).

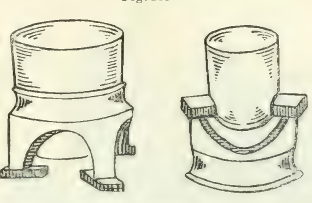
[6]) *K. Arndt*, Zwei billige Vorrichtungen für quantitative Arbeiten. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 649 (1910).

die Öse des Deckels ab, legt ihn mit seiner Innenseite nach oben auf ein am besten in der Mitte durchgebranntes Drahtnetz und setzt in passender Entfernung eine kleine Flamme darunter. Bei Veraschungen oder dgl. kann man zum Schluß die Flamme bis zum Glühen des Porzellans steigern. Während Platingeräte beim Erhitzen auf Asbestplatten wegen deren Unreinigkeiten oft außen etwas beschlagen, bleiben sie auf einer Porzellanplatte stets sauber, und Flüssigkeiten verdampfen wegen der guten Wärmeleitung des Porzellans ziemlich rasch.

Drückt man einen Porzellantiegeldeckel mit seiner Öse in die Decke einer leeren Streichholzschachtel, so hat man ein sauberes Porzellantischchen, auf das man heiße Platindeckel u. dgl. ablegen kann.[1])

Als praktische Tiegeluntersätze, die nichts kosten, wurde ferner auf die feuerfesten Fußstücke ausgedienter Glühstrümpfe für Hängegaslicht aufmerksam gemacht. Wie die Skizzen (Fig. 243) zeigen, sind sie von oben und von unten für verschiedene Tiegelgrößen (auch als Einsätze in Exsikkatoren) zu gebrauchen.[2])

Fig. 243



Fußstücke von Hängegasglühlichtlampen als Tiegeluntersätze nach *v. Heygendorff*.

V. Bäder und Öfen.

1. Luftbäder (Thermostaten, Brutschränke).

(Vgl. S. 58—65.)

Ein doppelwandiger Heizschrank, der höhere Temperaturen erreichen läßt, als es mit den gewöhnlichen Luftbädern möglich ist, ist in Fig. 244 abgebildet.[3])

Dieser Schrank besteht aus starkwandigem Aluminiumblech und ist von einem Gehäuse aus dickwandigem Asbestschiefer umgeben. Die Heizflammen schlagen zunächst auf eine starke Kupferplatte. Mit einem größeren *Allihn*-Brenner (vgl. Bd. I, S. 48 und Fig. 85 auf S. 49) erreicht man in dem Luftbade nach 5 Minuten 100°, nach 9 Minuten 200°, nach 17 Minuten 300°, nach 30 Minuten 400° und nach ca. 45 Minuten 460° in der Mitte des Kastens.

Als einfaches Luftbad, speziell zum sauberen und gleichmäßigen Erhitzen von Platintiegeln, empfiehlt sich ein Nickeltiegel von etwa 100 cm^3

[1]) *K. Arndt,* Zwei billige Vorrichtungen für quantitative Arbeiten. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 649 (1912).

[2]) *v. Heygendorff,* Tiegeluntersätze, die nichts kosten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 139 (1911).

[3]) *A. Stähler,* Ein Intensivtrockenschrank für Temperaturen bis zu 460° C. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 903 (1909).

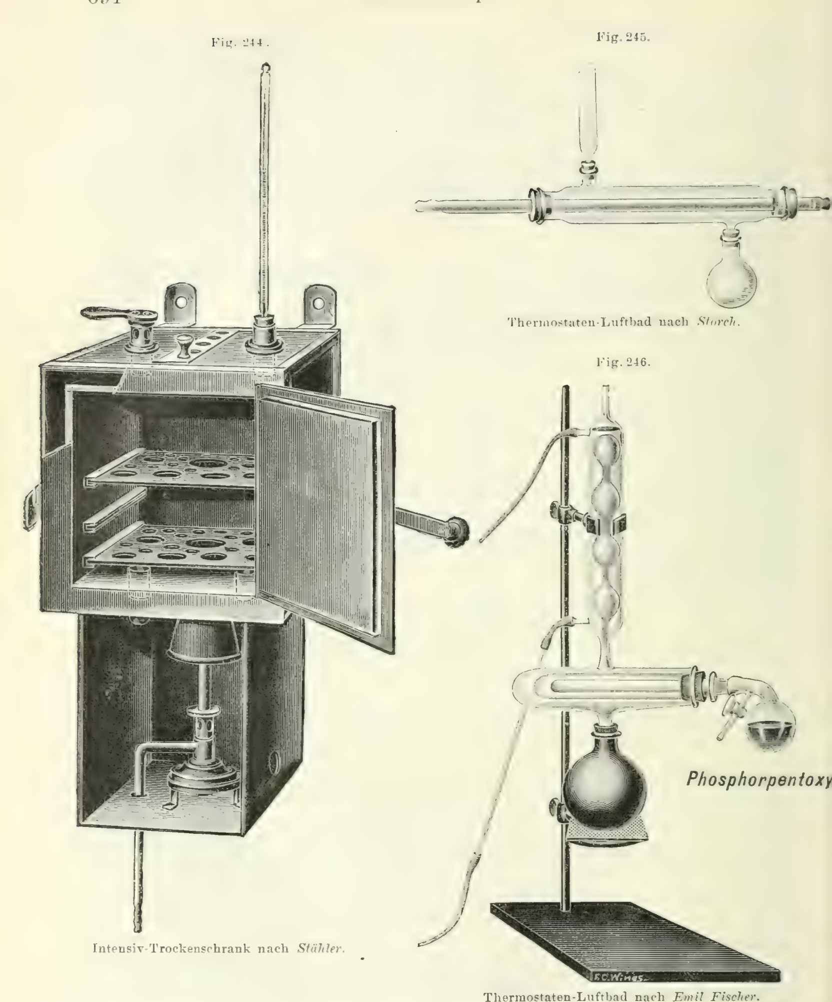


Fig. 244. Intensiv-Trockenschrank nach *Stähler*.

Fig. 245. Thermostaten-Luftbad nach *Storch*.

Fig. 246. Thermostaten-Luftbad nach *Emil Fischer*.

Inhalt; zum Halten des Platintiegels kann ein Dreieck aus einer Nickellegierung benutzt werden.[1])

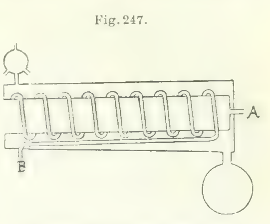
[1]) *W. M. Thornton jun.*, Ein Radiator für Platintiegel. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 3, p. 419 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 353 (1911).

Von den vielen Thermostaten (Luftbädern für konstante Temperaturen), die durch die Dämpfe einer siedenden Flüssigkeit geheizt werden, sind hier noch einige der wichtigeren Konstruktionen zu erwähnen.

Zum Trocknen von Analysensubstanzen im Vakuum oder in einem Gasstrom bei konstanter Temperatur dient der in Fig. 245 abgebildete Apparat.[1] (Vgl. auch dieses Handbuch, Bd. V, 2. Teil, S. 1525, Fig. 286.) Sehr ähnlich ist die von *Emil Fischer*[2]) vorgeschlagene Form, die sich ausgezeichnet bewährt hat (Fig. 246). Die Temperatur im Innern dieses Trockenapparates ist ca. 5—6° niedriger als der Siedepunkt des Lösungsmittels, wenn man bei Temperaturen in der Nähe von 100° (z. B. mit Xylol) arbeitet.

Einen in Kupfer gearbeiteten wirksamen Trockenschrank, der ebenfalls durch die Dämpfe eines siedenden Lösungsmittels auf konstante Temperatur gehalten wird und der gleichzeitig erlaubt, einen vorgewärmten Gasstrom (Luft, Kohlendioxyd od. dgl.) über das zu trocknende Material zu leiten, stellt Fig. 247 dar.[3]) Auf der linken Seite wird der Apparat durch eine verschraubbare Tür aus Gußstahl luftdicht verschlossen, bei *A* wird eine Luftpumpe und bei *B* eine zum Waschen des Gases und außerdem als Blasenzähler dienende Waschflasche angeschlossen. — Ganz ähnlich ist der Thermostat von *Coste*.[4])

Fig. 247.



Thermostaten-Luftbad nach *Siau*.

Einen elektrischen Thermostaten, der durch eine elektrische Glühlampe geheizt wird und Temperaturen bis 60° zu erreichen gestattet, stellt Fig. 248 dar.[5]) Die Glühlampe ist direkt in den Wasserraum des Luftbades eingebaut und schaltet sich automatisch aus und ein, je nachdem die Temperatur, auf die man eingestellt hat, erreicht ist oder noch nicht.

Ebenfalls ein mit elektrischen Glühlampen heizbarer Thermostat wurde von anderer Seite vorgeschlagen.[6]) In diesem Trockenschrank, der 2 Reihen von je 4 Glühlampen enthält, erreicht man leicht Temperaturen bis 160°. Bei 95° betrug die Schwankung $\pm 1°$.

---

[1]) *L. Storch*, Vakuumtrockenapparat. Ber. d. österr. Ges. 1893, S. 13; Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **6**, S. 337 (1893) und Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **33**, S. 585 (1894).

[2]) Bisher nur anonym oder unter falschem Autornamen veröffentlicht; vgl. dieses Handbuch, Bd. **1**, S. 296, Fig. 429. — Ferner: *C. Liebermann* und *M. Zsuffa*, Über Anthranol-sulfosäuren. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 1009 (1910).

[3]) *R.L. Siau*, Ein neuer Trockenofen für konstante Temperatur. Journ. Soc. Chem. Ind. Vol. **30**, p. 61 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 81 (1911).

[4]) *J. H. Coste*, Ein Trockenofen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 874 (1912).

[5]) *F. Hanfland*, Neuer elektrischer Thermostat. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 256 (1910).

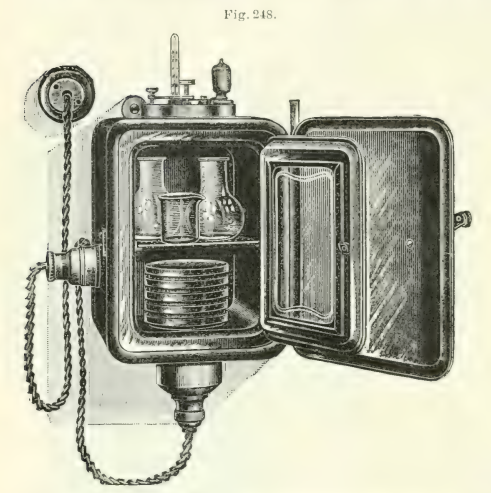
[6]) *M. M. Mac Lean*, Ein guter Trockenofen. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **2**, p. 480 1910); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 9 (1911).

2. Thermoregulatoren. (S. 65—68.)

a) Thermoregulatoren für Bäder, die mit Gas geheizt werden.

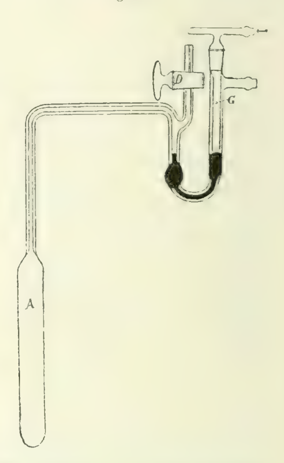
Für doppelwandige, mit Wasserdampf über 100° zu erhitzende Trockenschränke wurde ein Thermoregulator konstruiert, der direkt in den Fuß des Brenners eingebaut ist, und der durch den Dampfdruck des Wasserdampfs betätigt wird: übersteigt der Dampfdruck die gewünschte Höhe, auf die der Apparat eingestellt ist, so drückt er in einem U-Rohr

Fig. 248.



Thermostaten-Luftbad mit Glühlampenheizung nach *Hanfland.*

Fig. 249.



Thermoregulator für Gasheizung nach *Poetschke.*

eine Quecksilbersäule gegen die Brennerdüse so dicht heran, daß der Gasstrom gehemmt wird und die Temperatur wieder sinkt. [1])

Genau dasselbe Prinzip, nur daß an Stelle des Wasserdampfes die durch die Wärme ausgedehnte Luft auf das Quecksilber in dem einen Schenkel eines U-Rohrs drückt, in dessen anderen Schenkel der Gasstrom vom Quecksilber mehr oder weniger freigegeben wird, befolgt der in Fig. 249 abgebildete Thermoregulator. [2]) *A* ist das mit Luft gefüllte Gefäß, gleichsam ein Luftthermometer; es wird in den zu erwärmenden Raum eingesetzt. Um den Apparat einzustellen, heizt man das betreffende Bad an und läßt von Zeit zu Zeit durch den Hahn *D* die sich ausdehnende Luft entweichen, bis die gewünschte Temperatur erreicht ist, dann wird

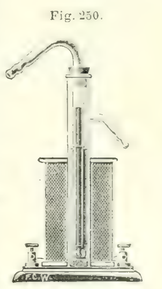
[1]) *F. Hanfland,* Ein sich selbst regulierender Gasbrenner. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 669 (1911).

[2]) *P. Poetschke,* Ein neuer Thermoregulator mit Gasheizung. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 1218 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 9 (1910).

er geschlossen. Steigt die Badtemperatur noch höher, dehnt sich die Luft also noch weiter aus, so hemmt das im anderen Schenkel des U-Rohrs emporsteigende Quecksilber den Gasstrom, der schließlich nur noch durch die kleine Öffnung *G* fließt, so daß die Heizflamme nicht gänzlich erlischt. Dank dem hohen Ausdehnungskoeffizienten der Gase arbeitet der Apparat sehr genau, aber natürlich nur solange, als der äußere atmosphärische Luftdruck konstant bleibt.

Ein elektromagnetischer Thermoregulator mit Toluol als Thermometerflüssigkeit, der von *Hahn* [1]) vorgeschlagen wurde, wirkt in folgender Weise: Ist die Temperatur des Luftbades zu hoch, so steigt der Quecksilberfaden im Toluolregulator und schließt dadurch einen elektrischen Strom, der das in Fig. 250 dargestellte Ventil betätigt. Dieses besteht aus einer elektromagnetischen Spule, in deren Innern sich ein zum Teil mit Quecksilber gefülltes Gefäß befindet. Auf dem Quecksilber schwimmt ein Eisenkern, der durch das gläserne Gaszuführungsrohr in vertikaler Stellung lose gehalten wird (vgl. die Abbildung). Sobald nun ein Strom durch die Spule geht, wird der Eisenkern nach abwärts gezogen, das Quecksilber steigt empor und verschließt das Rohr und damit den Gasstrom. — Eine ähnliche elektrische Thermostatenregulierung wurde von *Dolezalek* [2]) angegeben. Bei dieser Anordnung besorgt ein in einem Kapillarrohr beweglicher Quecksilberfaden Stromschluß und Unterbrechung für ein Relais, mittelst dessen die Gaszufuhr elektromagnetisch reguliert wird.

Fig. 250.



Ventil des elektromagnetischen Thermoregulators nach *Hahn*.

Ebenfalls elektromagnetisch werden die von *Jayle* [3]), von *Jahn* [4]) und von *Morgan* [5]) angegebenen Thermoregulatoren betätigt.

Auch die Unzahl der gewöhnlichen Quecksilberregulatoren für Gasheizung sind um weitere Neukonstruktionen noch vermehrt worden. [6]) Bei ausgedehnteren Dauerversuchen und großen Anforderungen an stetige Genauigkeit sind diese Typen nicht gut verwendbar, da bei Temperaturen über 30° ein langsames Verdampfen des Quecksilbers stattfindet, was mit der Zeit ein Steigen der Einstellungs-

[1]) *O. Hahn,* Beiträge zur Thermodynamik des Wassergases. Das Gleichgewicht $CO_2 + H_2 = CO + H_2O$. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **44**, S. 525 (1903).

[2]) *F. Dolezalek,* Beiträge zur Theorie der Dampfspannung homogener Gemische. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **26**, S. 326 (1897).

[3]) Siehe: *G. Jayle,* Neuer elektromagnetischer Thermoregulator. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 1910, p. 163; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 377 (1910).

[4]) *St. Jahn,* Über eine elektrische Thermostatenregulierung. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **16**, S. 865 (1910).

[5]) *J. Livingston R. Morgan,* Ein einfaches Bad für konstante Temperatur zum Gebrauch sowohl oberhalb als auch unterhalb Zimmertemperatur. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 78, S. 123 (1912).

[6]) Siehe z. B.: *F. Friedrichs,* Thermoregulator. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **36**, S. 674 (1897). — *Chr. Kob & Co.,* Gas-Thermoregulator. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1152 (1910). — *A. Slator,* Gasregulator für Thermostaten. Journ. Soc. Chem. Ind. Vol. **30**, p. 61 (1911).

temperatur zur Folge hat. In solchen Fällen eignen sich besser die Metallregulatoren. Diese stehen den Quecksilberregulatoren zwar an Genauigkeit nach, können aber auf beliebig hohe Temperaturen erhitzt werden, ohne daß sich die einmal eingestellte Temperatur mit der Zeit verschiebt.[1])

b) Thermoregulatoren für elektrisch geheizte Bäder.

Die soeben erwähnten, für Gasheizung berechneten, aber elektrisch betriebenen Thermoregulatoren sind natürlich auch leicht für elektrisch geheizte Bäder zu verwerten. Ferner sind einige mit elektrischen Glühlampen geheizte Thermostaten, bei denen der elektrische Strom sich nach Bedarf automatisch öffnet und schließt, bereits oben erwähnt worden (S. 695).

Fig. 251.

Thermoregulator für elektrisch geheizte Bäder nach *Muencke.*

Eine ebenfalls für elektrisch geheizte Luftbäder vorgeschlagene Konstruktion bedient sich des Prinzips der Gasthermometer: ein eingeschlossenes Volum Stickstoff verschiebt bei Temperaturänderungen in einer Glaskapillare einen Quecksilberfaden, der durch Öffnen und Schließen eines Relais den elektrischen Heizstrom des Luftbades in gewünschter Weise reguliert. Das Prinzip ist also dem des oben erwähnten Gasregulators (vgl. Fig. 249) sehr ähnlich. Ein derartiger Regulator vermag Temperaturen zwischen 800° und 900° über Zeiträume von mehreren Wochen innerhalb 1° konstant zu halten.[2]) Für niedrigere Temperaturen (etwa von 30—100°) eignet sich der in Fig. 251 abgebildete Thermoregulator[3]) für elektrisch geheizte Bäder. Die in dem zylindrischen Gefäß *c* befindliche Membran *b* wird durch den stärkeren oder geringeren Druck des Dampfes einer im Gefäße *c* enthaltenen niedrig siedenden Flüssigkeit je nach der Temperatur mehr oder weniger zusammengedrückt; hierdurch wird ein so schnelles Steigen oder Sinken der Quecksilbersäule und des Schwimmers *i* bewirkt, daß schon die geringsten Temperaturschwankungen, etwa $^1/_5$° C, genügen, um den elektrischen Heizstrom ein- oder auszuschalten. Bei *g* und *h* wird der elektrische Strom angeschlossen und mittelst der Mikrometerschraube *s* der Apparat eingestellt.

3. Öfen. (S. 68—72.)

a) Mit Gas zu heizende Öfen:

[1]) Vgl.: *Poda,* Thermostat für refraktometrische Bestimmungen. Chem.-Ztg. Bd. **35**. S. 1382 (1910).

[2]) *M. Bodenstein* und *F. Kranendieck,* Ein Thermoregulator für elektrische Widerstandsöfen. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **18**, S. 417 (1912). — Vgl. auch: *M. Bodenstein* und *W. Pohl*, Gleichgewichtsmessungen an der Kontaktschwefelsäure. Ebenda. Bd. **11**, S. 376 (1905).

[3]) *R. Muencke,* Thermoregulator für elektrische und Gasheizung. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 659 (1912).

Zum Heizen von Röhren bis auf etwa 550° bei guter Temperaturkonstanz wurde ein Gasofen angegeben, dessen Temperatur mittelst eines sehr langarmigen Zeigerhahns genau einstellbar ist.[1])

Zur Erzielung höherer Temperaturen (über 1300°) ist ein praktischer Gebläse-Gasofen angegeben worden, dessen innere Teile größtenteils aus Magnesia bestehen.[2]) Bis zur Platinschmelzhitze (über 1700°) gelangt man bei Anwendung von Preßluft mit besonders sorgfältig durchkonstruierten Gasöfen.[3])

b) Elektrisch zu heizende Öfen:

Zur Herstellung von Temperaturen, die 1000° erheblich übersteigen, dürfte die elektrische Heizung unbedingt den Vorzug verdienen, namentlich wenn es sich um kleine Apparate und kleine Massen, die erhitzt werden sollen, handelt.[4])

Die Zahl der neu vorgeschlagenen elektrischen Laboratoriumsöfen ist erstaunlich groß; hier können nur einige wenige kurz Erwähnung finden.

Ein Ofen mit Widerstandsmaterial aus einem Gemisch von kleinstückiger Kohle mit Magnesia erlaubt Korundschmelzhitze zu erzeugen.[5]) Nach vorangegangenem Anheizen nimmt der Ofen ohne Schaden etwa 8 Kilowatt, d. h. 100 Amp. × 80 Volt, auf. Betreffs der ähnlichen Kryptol- und Silundum-Öfen sei auf die Literatur verwiesen.[6])

Als Widerstandsmaterial für elektrische Öfen sind ferner in Anwendung gekommen: Wolfram[7]), „Kalorit“[8]), Molybdän[9]), Nickel[10]),

---

[1]) *M. Le Blanc* und *E. Plaschke*, Über die Darstellung von Formaldehyd aus Methylalkohol nach dem Kontaktverfahren. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 48 (1911).

[2]) *W. Pip*, Zwei neue Laboratoriumsöfen für hohe Temperaturen. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **16**, S. 664 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 516 (1910).

[3]) Vgl. im übrigen: *Heinecke*, Versuchsöfen für Laboratorien mit Gasheizung und Preßluft. Keram. Rundsch. 1911, S. 2; Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 438 (1911). — Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 21 (1912).

[4]) Vgl.: *W. Hempel*, Erfahrungen mit elektrischen Öfen. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **23**, S. 289 (1910).

[5]) *W. Pip*, Zwei neue Laboratoriumsöfen für hohe Temperaturen. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **16**, S. 665 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 516 (1910).

[6]) Siehe darüber z. B.: *W. Hempel*, l. c. — Vgl. auch u. a.: *J. H. Goodwin*, Elektrischer Widerstandsofen für das Laboratorium. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 436 (1911); *O. Ruff*, Über das Schmelzen und Verdampfen unserer sogenannten hochfeuerfesten Stoffe und über das Eisen-Kohlenstoffsystem. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 650 (1911).

[7]) *H. Leiser*, Die Industrialisierung des Wolframs. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 702 (1911). — *C. G. Fink-Harrison*, Neue Anwendungen von duktilem Wolfram. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1144 (1912).

[8]) Eine Legierung von Nickel, Chrom, Mangan und Eisen. Vgl.: *S. A. Tucker*, Elektrischer Rohrenofen mit Kaloritwiderständen für Laboratoriumsgebrauch. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 578 (1911).

[9]) *R. Winne* und *C. Dantziger*, Zwei einfache elektrische Öfen für Laboratoriumsarbeiten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1437 (1911).

[10]) *M. Le Blanc*, Widerstandsöfen mit elektrisch geheiztem Nickeldraht. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **15**, S. 683 (1909); vgl. auch die folgende Diskussion des Vortrags. — *R. Lorenz* und *G. v. Hevesy*, Widerstandsöfen mit elektrisch geheiztem

Nickel-Chrom[1]) usw. Die Widerstandsdrähte aus unedleren Metallen, namentlich aus Nickel, werden ziemlich rasch brüchig, selbst wenn sie mit Ton, Asbest und anderen Materialien umgeben sind.[2]) Um die Lebensdauer solcher Öfen zu verlängern, wurde vorgeschlagen, den Widerstandsdraht mit einer Kohlenpackung zu umgeben: Beim Anheizen verbrennt eine kleine Menge Kohle mit dem im Ofen befindlichen Luftsauerstoff zu einem Gemisch von Kohlenoxyd und -dioxyd, Gase, gegen die der Heizdraht beständig ist.[3]) Von anderer Seite wurde vorgeschlagen, die Luft aus derartigen Öfen durch Einleiten indifferenter Gase[4]) (namentlich Wasserstoff) zu verdrängen oder die Drähte mit metallischen Schutzzylindern (z. B. aus Kupfer oder Eisen, die in der Hitze den Luftsauerstoff aufnehmen) zu umgeben.[5]) — Wie man sich einen elektrischen Widerstandsofen selbst anfertigen kann, gab *Benner*[1]) an.

Hinzuweisen ist endlich auf die elektrischen Vakuumöfen, wie ein solcher von *O. Ruff*[6]) für ein exaktes Studium chemischer Vorgänge bei Temperaturen oberhalb 2000° konstruiert worden ist.

4. Wasser- und Wasserdampfbäder. (S. 72—76.)

Das in Fig. 252 abgebildete Wasserbad mit konstantem Niveau hat manche Vorzüge: es ist von einer Druckwasserleitung unabhängig, betriebssicher, sparsam im Gasverbrauch und erlaubt ein sauberes Arbeiten.[7]) Die

---

Nickeldraht. Ebenda. Bd. **16**, S. 185 (1910). — *M. Bodenstein* und *F. Kranendieck*, Ein Thermoregulator für elektrische Widerstandsöfen. Ebenda. Bd. **18**, S. 417 (1912). — Siehe ferner: *H. C. H. Carpenter*, Metallurgie. Bd. **6**, S. 94 (1909).

[1]) *R. C. Benner*, Wie macht man einen elektrischen Laboratoriumsofen? Min. and Eng. World. Vol. **36**, p. 1051 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 429 (1912).

[2]) Vgl. z. B.: *E. Gumlich* (Diskussion), Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **15**, S. 685. — *W. Hempel*, l. c.

[3]) *L. Ubbelohde*, Elektrische Laboratoriumsöfen mit Wicklung aus unedlem Metall Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1403 (1911) und Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 1002 (1911) und Bd. **18**, S. 512 (1912). — Siehe darüber auch: *W. C. Heraeus* und *Ubbelohde*, Ebenda. Bd. **36**, S. 167 (1912) und *W. C. Heraeus*, Über elektrische Laboratoriumsöfen. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **18**, S. 143 (1912). — Ferner: *L. Ubbelohde*, Herstellung von Thermoelementen unter Verwendung unedler Metalle. D. R.-P. 248.138; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 400 (1912).

[4]) *H. Seibert*, Über einen elektrischen Widerstandsofen mit Heizwiderstand aus unedlen Metallen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 443 (1911).

[5]) *H. Seibert*, Über einen neuen elektrischen Widerstandsofen mit Heizwiderstand aus unedlen Metallen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 96 (1912).

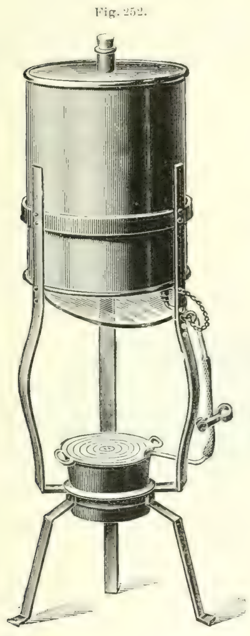
[6]) *O. Ruff*, Über einen elektrischen Vakuumofen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 1564 (1910) und: Derselbe, Über das Schmelzen und Verdampfen unserer sogenannten feuerfesten Stoffe und über das Eisenkohlenstoffsystem. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 650 (1911). — *O. Ruff* und *O. Goecke*, Über das Schmelzen und Verdampfen unserer sogenannten feuerfesten Stoffe. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **18**, S. 164 (1912). — *O. Goecke*, Der elektrische Vakuumofen und seine Verwendung. Metallurgie. Bd. **8**, S. 667 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 21 (1912).

[7]) *H. Leiser*, Wasserbad mit konstantem Niveau, Vorwärmung und Staubschützer. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 899 (1911).

Füllung des über dem Bade angeordneten Wasserreservoirs reicht für 2—3 Tage ununterbrochenen Tag- und Nachtbetrieb aus (30—40 l Wasser).

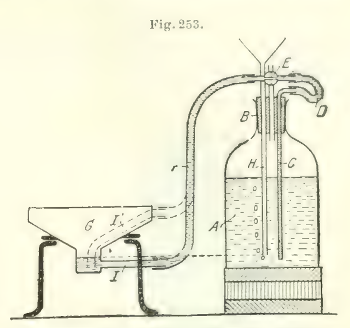
Ein Wasserbad mit konstantem Niveau, das man sich leicht selbst zusammenstellen kann, zeigt Fig. 253.[1]) Da diese immerhin ziemlich kompli-

Fig. 252.



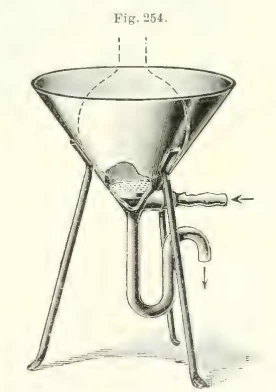
Wasserbad mit konstantem Niveau nach *Leiser*.

Fig. 253.



Wasserbad mit konstantem Niveau nach *Schirm*.

Fig. 254.



Wasserdampfbad nach *Kumm*.

zierte Einrichtung nur bei dicht haltenden Stopfen und Hähnen richtig arbeitet, ist sie nicht als sehr betriebssicher zu bezeichnen. — Speziell für refraktometrische Zwecke sind Wasserbäder (Thermostaten) von *Poda*[2]) und von *Gore*[3]) angegeben worden.

---

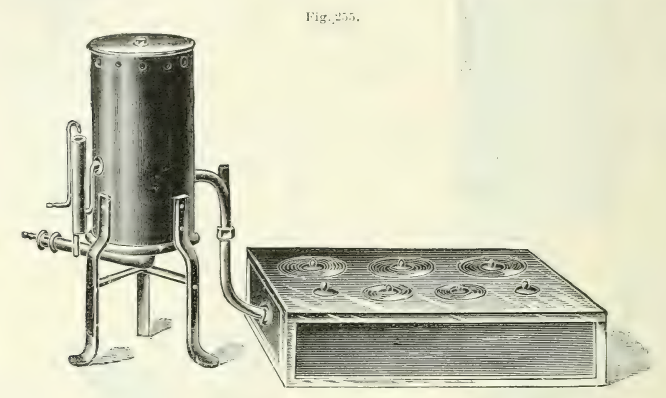
[1]) *E. Schirm*, Wasserbad mit konstantem Niveau. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 348 (1912).

[2]) *Poda*, Thermostat für refraktometrische Bestimmungen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1382 (1910).

[3]) *H. C. Gore*, Ein elektrisch kontrolliertes konstantes Wasserbad für Eintauchrefraktometer. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **3**, p. 506 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 431 (1911).

Ein praktisches Wasserdampfbad zeigt Fig. 254. Die trichterförmige Gestalt hat den Vorteil, daß Siedekolben von jeder gewöhnlichen Größe in das Bad hineinpassen.[1]) Das in Fig. 255 abgebildete Dampfbad zeichnet sich durch folgende Vorzüge aus: es ist sofort betriebsfertig, da nur eine geringe Wassermenge zu erhitzen ist, es liefert nach Bedarf gesättigten oder überhitzten Dampf von genau einstellbarer Temperatur und gestattet ein bequemes, wenig Aufsicht erforderndes Arbeiten.[2]) Ein Dampfbad für Wasserdampf unter größerem Druck, also von höherer konstanter Tem-

Fig. 255.



Wasserdampfbad nach *Carliczek.*

peratur (je nach der angewandten Belastung des Sicherheitsventils: 102°, 104°, 106° usw.) gab *Wood*[3]) an.

5. Die übrigen Flüssigkeitsbäder. (S. 77—79.)

Nach *Harker*[4]) kann man als Badflüssigkeit zwischen 50 und 220° gewöhnliches Olivenöl benutzen, darüber hinaus Mischungen geschmolzener Salze. Das gleichmolekulare Gemisch von Kalium- und Natriumnitrat schmilzt z. B. schon bei 219°; es entstehen keine Dämpfe oder andere Belästigungen, und das Schmelzbad kann in einem eisernen Gefäß auf mehr als 650° erhitzt werden.

[1]) *A. Kumm*, Dampfbad für leicht brennbare Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 801 (1910).

[2]) *H. Carliczek*, Dampferzeuger mit automatischer Wasserzuflußregulierung und Dampfüberhitzer, kombiniert mit wärmeisoliertem Dampfbad. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 352 (1910).

[3]) *J. Wood*, Ein zuverlässiges Dampfbad. Pharm. Journ. [4], Bd. **32**, S. 331 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 253 (1911).

[4]) *J. A. Harker*, Die Einrichtung des National Physical Laboratory für hohe Temperaturen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 745 (1911).

Als Metallbadfüllung empfiehlt sich ein Gemisch von 29% Zinn und 71% Blei ($= Sn_4Pb$), das bereits bei 187° schmilzt.[1] Man kann diese Legierung in dünnwandigen Glasgefäßen schmelzen, erstarren lassen und wieder schmelzen, ohne daß das Glas springt. Vor Ölbädern haben Metallbäder die folgenden Vorzüge[1]: keine Entwicklung von lästigen Dämpfen, wie sie Ölbäder beim erstmaligen Anheizen und bei höherer Temperatur stets geben; kein Überlaufen wie bei Öl, wenn Wasser darin war oder zufällig hineinkam; saubereres Arbeiten als mit Öl, namentlich wenn dieses durch Alter dick und schwarz geworden ist; rasches Anheizen und Abkühlen infolge der besseren Wärmeleitung; keine Feuersgefahr.

Ein sehr bequemes, praktisches Flüssigkeitsdampfbad für Reagenzglasversuche stellt man sich nach *S. Gabriel*[2] in folgender Weise her. Ein weites Reagenzglas von ca. 5 *cm* Durchmesser wird mit 10 bis 20 *cm*³ einer Heizflüssigkeit von geeignetem Siedepunkt beschickt. Über dieser hängt der enge Reagierzylinder von der üblichen Weite (1·5—2 *cm* Durchmesser) frei in der Luft, gehalten von einem passend geschnittenen, durchlochten und mit radialen Einschnitten versehenen Stück Blech, das auf dem Rande des weiten Reagenzglases lose aufliegt. Da beim Erhitzen von Reaktionsgemischen (namentlich von festen) im Reagenzrohr über freier Flamme örtliche Überhitzungen gar nicht zu vermeiden sind, wird die beschriebene Vorrichtung, mit der sich ohne Anwendung eines Thermometers ganz bestimmte und konstante Wärmegrade erzielen lassen, bei vielen Reagenzglasversuchen wertvolle Dienste leisten.

Als Badflüssigkeiten hält man sich z. B. die folgenden bereit (vgl. auch Bd. I, S. 61):

Badflüssigkeit	Siedepunkt
Toluol	107°
Xylol	136°
Cumol	161°
Methylbenzoat	213°
Chinaldin	246°

VI. Erhitzen unter Druck. (Vgl. S. 80—88.)

3. Schießöfen. (S. 83—87.)

Ein elektrisch durch einen Widerstandsdraht zu heizender Schießofen, der in bequemer Weise Temperaturen bis zu 440° erreichen läßt, wurde von *Benner*[3]) angegeben.

[1]) *J. Walter,* Aus der Praxis der Anilinfarbenfabrikation, III. Die Fabrikation des Dimethylanilins. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 681 (1910).

[2]) Bisher noch nicht veröffentlicht.

[3]) *C. Benner,* Ein elektrisch geheizter Bombenofen. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 1402 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 521 (1911).

VII. Temperaturmessung. (Vgl. S. 88—94.)

Über die heutigen Fehlergrenzen bei der Messung höherer Temperaturen wurden folgende Angaben gemacht. Die Mindestfehler bei exakten Messungen betragen etwa[1]):

zwischen	0° und	100°	± 0·002°	zwischen	1100° und	1550°	± 2°
„	100° „	300°	± 0·05°	„	1550° „	1750°	± 5°
„	300° „	1000°	± 0·8°				

1. Flüssigkeitsthermometer. (S. 88—91.)

Für genaue Messungen kann man sich eines guten, kalibrierten *Beckmann*-Thermometers bedienen, mit dem man bei einiger Übung eine Genauigkeit von etwa 1‰ erreichen kann.[2])

Der Hauptvorzug der Thermometer aus Quarzglas besteht außer in ihrer Unempfindlichkeit gegen schroffen Temperaturwechsel und ihrem Ertragen hoher Temperaturen darin, daß der Eispunkt nicht ansteigt, wie es bei den gewöhnlichen Glasthermometern infolge thermischer Nachwirkung[3]) usw. stets der Fall ist.[4])

Bei der Messung sehr tiefer Temperaturen liefert nach *Timmermans*[5]) das Toluolthermometer genauere Resultate als die mit Alkohol, Schwefelkohlenstoff oder Pentan gefüllten. — Thallium-amalgamthermometer sind bis —60° brauchbar.[6])

Bezüglich der Prüfung von Laboratoriumsthermometern durch die Physikal.-Technische Reichsanstalt in Charlottenburg siehe die Literatur.[7])

2. Gasthermometer. (S. 91.)

Zur Füllung von Gasthermometern benutzt man meistens Stickstoff, das selbst bei 1600° keine Unregelmäßigkeiten in der Ausdehnung oder Neigung zur Dissoziation zeigt.[8]) Als Thermometergefäß kommt nur Metall in Betracht, z. B. eine Platinlegierung mit 20% Rhodium; Iridium

[1]) *A. Day*, Die Messung hoher Temperaturen und ihre Fehlergrenzen. Met. and Chem. Eng. Vol. **8**, p. 260 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 401 (1910).

[2]) *E. Beckmann*, Modifikationen des Thermometers für die Bestimmung von Molekulargewichten und kleinen Temperaturdifferenzen. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **51**, S. 359 (1905). — Siehe auch: *W. A. Roth*, Zur Thermochemie organischer Körper. Zeitschrift f. Elektroch. Bd. **17**, S. 789 (1911).

[3]) Vgl. z. B.: *F. Allihn*, Über das Ansteigen des Eispunktes bei Thermometern aus Jenaer Normalglas. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1301 (1909).

[4]) *A. Kühn*, Fabrikthermometer aus Quarzglas. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 339 (1910).

[5]) *J. Timmermans*, Über den Gefrierpunkt organischer Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 881 (1911).

[6]) *Mc Intosh* und *G. Johnson*, Bericht über Amalgamthermometer. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **34**, p. 910 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 589 (1912).

[7]) Siehe z. B.: *H. F. Wiebe*, Die Prüfung von Laboratoriumsthermometern. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1192 (1912).

[8]) *A. L. Day*, Neuere Fortschritte auf dem Gebiete der Gasthermometer. Chem.-Zeitung, Bd. **35**, S. 745 (1911). — Vgl. auch: *W. Bürger*, Die Messung hoher Temperaturen. Elektrochem. Zeitschr. Bd. **17**, S. 309 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 557 (1911).

eignet sich nicht für hohe Temperaturen. Quarzglas verträgt längere Zeit hindurch keine Temperaturen oberhalb 1100° (vgl. oben, S. 634/5)[1]).

Um die Diffusion des betreffenden Thermometergases durch die Gefäßwandung zu verhindern, den mechanischen Druck abzuschwächen und die Empfindlichkeit zu erhöhen, trifft man die Einrichtung, daß Thermometerraum und Heizschlange sich zusammen in einer luftdicht schließenden Bombe befinden. Es läßt sich auf diese Weise erreichen, daß der Gasdruck außerhalb und innerhalb des Thermometergefäßes gleich ist.[1]) Als Manometer benutzt man ein offenes U-Rohr, dessen kapillare Verbindung mit dem Thermometergefäß so eng ist, daß Beobachtungsfehler ausgeschlossen sind.

Gasthermometer mit Stickstoff-Füllung und einem Platin-Rhodiumgefäß (80% Pt, 20% Rh) sind bis zu 1600° für sehr genaue Messungen brauchbar und können u. a. zur Aichung von elektrischen Pyrometern dienen.[2]) Für Gasthermometer mit Quarzglasgefäß ist nur Stickstoff als Füllung geeignet. Helium ist dazu ebensowenig wie Wasserstoff brauchbar, weil diese Gase bei höheren Temperaturen durch Quarz diffundieren.[3]) (vgl. oben, S. 635—636.)

3. Elektrische Thermometer. (S. 91—93.)

Oberhalb des Silberschmelzpunkts (961°) ist Temperaturmessung mittelst Thermoelementen bequemer als mit Widerstandspyrometern: Die elektrischen Platin-Widerstandsthermometer unterliegen bei höheren Temperaturen zunehmenden Veränderungen, die man vermindern, aber nicht beseitigen kann, wenn man das Pyrometer mehrere Stunden einer höheren Temperatur aussetzt, als die ist, bei der die nachfolgenden Messungen stattfinden sollen.[4])

Das thermoelektrische Pyrometer *Le Chateliers* war das erste Instrument, das erlaubte, Temperaturen bei Weißglut zu messen.[5]) Für hohe Temperaturen bis 1600° eignet sich ein Platin-Thermoelement (Platin + 10% Rhodium), für niedere Temperaturen ein Kupfer-Konstantan-Thermoelement.[6]) Neue Formen von Platin-Widerstandsthermometern gaben *Stern*[7])

[1]) *A. L. Day*, loc. cit.

[2]) Vgl. darüber z. B.: *R. Marc*, Referat über die bis zum Jahre 1911 aus dem Geophysical Laboratory, Carnegie Institution in Washington, hervorgegangenen Arbeiten. Zeitschr. f. Elektroch. Bd. **18**, S. 4 (1912).

[3]) *A. Jacquerod* und *F. L. Perrot*, Über die Anwendung des Heliums als thermometrische Substanz und seine Diffusion durch Quarz. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **139**, p. 789 (1904); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 8.

[4]) *C. W. Waidner* und *G. K. Burgess*, Met. and Chem. Eng. Vol. 8, p. 77 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 190 (1910).

[5]) Siehe z. B.: *K. Arndt*, Die Anwendung der physikalischen Chemie in der Industrie feuerfester Erzeugnisse. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 213 (1911).

[6]) *R. Marc*, Referat über die bis zum Jahre 1911 aus dem Geophysical Laboratory, Carnegie-Institut in Washington, hervorgegangenen Arbeiten. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **18**, S. 3 (1912).

[7]) *J. G. L. Stern*, Eine neue Form des Platinwiderstandsthermometers und Molekulargewichtsbestimmungen in verdünnten Kaliumnitratschmelzen. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **65**, S. 667 (1909).

und *Deckert*[1]) an. Über die Herstellung von Thermoelementen aus unedlen Metallen liegen Angaben von *Ubbelohde*[2]) vor.

Eines dreifachen Thermoelements bediente sich *H. Helmholtz* bei der experimentellen Untersuchung der Frage, ob die Zusammenziehung eines Muskels, unabhängig vom Blutumlauf und der Ernährung, eine Wärmeentwicklung bedingt oder nicht: das in einen Froschmuskel eingestochene Thermoelement zeigte Temperaturerhöhungen von 0·14—0·18° an, wenn der Muskel durch Induktionsschläge in Tetanus versetzt wurde.[3]) — Eine sehr empfindliche Thermosäule wurde von *Flügel*[4]) beschrieben.

Zur zweiten Methode der elektrischen Temperaturmessung: der Widerstandsmethode (Bolometer) ist folgendes nachzutragen. Der erste, der ein elektrisches Widerstandsthermometer benutzte, war wahrscheinlich *Siemens*.[5]) Die Genauigkeit dieses Verfahrens wurde von *Emil Fischer* und *Wrede*[6]) zu erhöhen versucht. Mit Hilfe dieser Methode der Temperaturmessung gelang es, die Verbrennungswärmen des Rohrzuckers und der Benzoesäure innerhalb der Fehlergrenze ± 0·5‰ festzustellen.[7]) Über eine neue, sehr handliche und empfindliche Bolometeranordnung berichtete *Seddig*.[8])

4. Die übrigen Methoden der Temperaturmessung.[9]) (S. 93—94.)

Am optischen Wanner-Pyrometer wurden einige Verbesserungen angebracht, bezüglich deren auf die Quelle verwiesen sei.[10])

---

[1]) *A. A. Deckert*, Temperaturmessung mittelst eines Widerstandsthermometers. Elektrochem. Zeitschr. Bd. **18**, S. 91 und 126 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, I, S. 1414.

[2]) *L. Ubbelohde*, Herstellung von Thermoelementen unter Verwendung unedler Metalle. D. R.-P. 248.138; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 400 (1912).

[3]) Vgl.: *Wilh. Ostwald*, Große Männer. Bd. **1**, S. 266, Leipzig (Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H.) 1909.

[4]) *F. Flügel*, Über Gefrierpunktsbestimmungen stark verdünnter wässeriger Lösungen. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **79**, S. 577 (1912).

[5]) *E. Haagn*, Ein neues Widerstandsthermometer für Temperaturmessungen bis 900° in Verbindung mit Fernanzeiger, Registrierung und Signalisierung der Firma *W. C. Heraeus*. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **20**, S. 565 (1907). — *C. T. Heycock*, Messung hoher Temperaturen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 444 (1911).

[6]) *Emil Fischer* und *F. Wrede*, Über die Bestimmung der Verbrennungswärme organischer Verbindungen mit Benützung des Platinwiderstandsthermometers. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **69**. S. 218 (1909).

[7]) Vgl.: *F. Wrede*, Über die Bestimmung von Verbrennungswärmen mittelst der kalorimetrischen Bombe unter Benützung des Platinwiderstandsthermometers. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **75**, S. 81 (1909).

[8]) *M. Seddig*, Ein neues Bolometer. Zeitschr. f. Elektroch. Bd. **15**, S. 733 (1909). — Siehe ferner: *C. W. Waidner* und *G. K. Burgess*, Platinwiderstandsthermometer für hohe Temperaturen. Bulletin of Bureau of Standards. Vol. **6**, p. 149 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 145 (1910).

[9]) Siehe u. a. auch: *G. A. Shook*, Messung hoher Temperaturen. Metall. and Chem. Eng. Vol. **10**, p. 480 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 537 (1912).

[10]) *H. Wanner*, Neuere Verbesserungen am Wanner-Pyrometer. Stahl und Eisen. Bd. 31, S. 736 (1911).

Segerkegel sind abgestumpfte dreiseitige Pyramiden von 6 *cm* Höhe, die aus Silikatgemengen (Kaolin mit verschiedenen Mengen Feldspat, Marmor und Quarz) bestehen und je nach ihrer Zusammensetzung verschieden hoch schmelzen. Sie sind ihrer Schmelzbarkeit entsprechend in Nummern eingeteilt. Nach den Messungen der Physikalisch-Technischen Reichsanstalt ist z. B. für Segerkegel 26 etwa 1600° anzusetzen.[1]) Die Temperaturen wurden mittelst Thermoelements und optischen Pyrometers gemessen.[2])

Nachträge zum sechsten Kapitel.

Trennen und Reinigen.

Vgl. Bd. I, S. 94—206.

I. Trennen auf Grund verschiedenen Aggregatzustandes.

(Vgl. S. 94—112.)

1. Filtrieren bei gewöhnlichem Druck. (S. 94—102.)

a) Papierfilter und Glastrichter. (S. 94—96.)

Filtrierpapier kann fabrikmäßig mit Kohlenpulver durchsetzt werden, indem man dieses dem Papierbrei im Holländer beimischt. Solches Papier leitet den elektrischen Strom gut, ist lichtundurchlässig und eignet sich zum Filtrieren von Flüssigkeiten, die in Zersetzung übergegangene organische Stoffe enthalten, ferner zum Filtrieren von Säuren und anderen ätzenden Lösungen, die gewöhnliches Filtrierpapier angreifen.[3])

Beim Aufbewahren nimmt Filtrierpapier im Laboratorium leicht Salzsäure, Ammoniak, Chlorammonium und selbst Nitrite auf. Im letztgenannten Fall treten an der Papierfaser Oxydationsvorgänge ein, so daß ein derartiges Filter z. B. aus jodwasserstoffhaltigen Lösungen Jod und sogar aus Salzsäure Chlor frei macht.[4]) Es empfiehlt sich daher, Filtrierpapier vor der Laboratoriumsluft möglichst geschützt aufzubewahren. —

Über die beste Ausführungsform der gewöhnlichen Glastrichter für Filtrationszwecke wurden eine Reihe Arbeiten veröffentlicht. Um die wirksame Filterfläche zu vergrößern und damit die Filtration erheblich zu beschleunigen, wurden Trichter vorgeschlagen, deren Stiel am oberen Ende

[1]) Vgl. z. B.: *K. Arndt,* Die Anwendung der physikalischen Chemie in der Industrie feuerfester Erzeugnisse. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 213 (1911). — *W. Bürger,* Die Messung hoher Temperaturen. Elektrochem. Zeitschr. Bd. **17**, S. 309 u. 337 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 557 (1911).

[2]) *Hoffmann,* Bericht der Physikalisch-Technischen Reichsanstalt über die im Auftrage des Vereines Deutscher Fabriken feuerfester Produkte übernommenen Untersuchungen der Segerkegel. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 339 (1911).

[3]) *L. Pierucci,* Papier. D. R.-P. 212.228; Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 412 (1909).

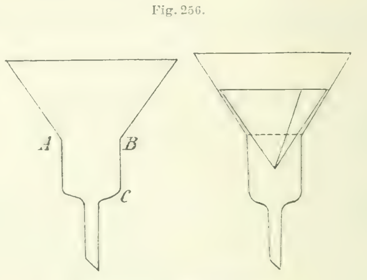
[4]) *De Koninck,* Über die Aufbewahrung von Filtrierpapier. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 429 (1909).

wesentlich verbreitert ist (Fig. 256). Der Durchmesser AB und die Entfernung BC sollen wenigstens 2·5 *cm* betragen.[1]) Diese Trichterform ist bereits früher von anderer Seite[2]) empfohlen worden (vgl. Bd. I, S. 95 und Fig. 183 auf S. 96). Für viele Zwecke kann der Trichterstiel dieser Trichter fehlen[3]) (Fig. 257). Man darf dann aber das verwendete Filter nicht zu klein wählen, da es sonst samt Niederschlag leicht durch die Öffnung hindurchgleitet. Für quantitative Arbeiten empfiehlt es sich, diese Trichter in einen gewöhnlichen Trichter einzusetzen; der Filterkonus hängt dann unverändert frei, findet aber eine Stütze am äußeren Trichter, sobald er sich etwas senkt.

Ein anderes Prinzip, das Filtriergeschäft im Laboratorium zu beschleunigen, besteht gerade umgekehrt darin, Trichter mit einem recht engen und langen Stiel zu benutzen: Wenn in dem engen Rohr der Flüssigkeitsfaden nicht reißt, kommt eine Saugwirkung zustande. Um das Abreißen der Flüssigkeitssäule zu verhüten, wurde vorgeschlagen, den Trichterstiel mit einer Knickung zu versehen[4]) (Fig. 258).

Man kann mit Vorteil diese Knickung auch an einer Ver-

Fig. 256.



Filtriertrichter nach *Blackman*.

Fig. 257.



Filtriertrichter nach *Blackman*.

längerungsröhre des Trichterstiels (mit 3—4 *mm* innerer Weite) anbringen. Diese Einrichtung soll einfacher sein als die demselben Zweck dienenden Schleifentrichter (vgl. Bd. I, S. 95 und Fig. 184 auf S. 96).

Noch einfacher erreicht man dasselbe Ziel, wenn man mit Hilfe der Gebläselampe zwei Einengungen in das Trichterrohr macht[5]) (Fig. 259).

Einen Rippentrichter, der 2½mal rascher filtriert als ein gewöhnlicher Trichter, kann man sich leicht aus diesem durch Einätzen

[1]) *Ph. Blackman*, Ein praktischer Trichter. Chem. News. Vol. **104**, p. 30 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 409 (1911). — Derselbe, Ein neuer Trichter. Chem. News. Vol. **104**, p. 211 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 645 (1911).

[2]) *A. Gwiggner*, Rapid-Analysentrichter. Chem.-Ztg. Bd. **27**, S. 889 (1903). — Vgl. auch die Notiz zu dem Artikel von *Ph. Blackman*. Chem.-Ztg. Bd. **35**. Rep. S. 409 (1911).

[3]) *Ph. Blackman*, Ein neuer Trichter. Chem. News. Vol. **104**, p. 312 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 69 (1912).

[4]) *E. Murmann*, Knie-Filtriertrichter. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 124 (1910).

[5]) *P. E. Raaschou*, Wie erzielt man den größten Nutzeffekt eines Trichters? Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **49**, S. 759 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 613 (1910).

von Rillen in folgender Weise selbst herstellen.[1]) Man überzieht einen gewöhnlichen, für quantitative Bestimmungen benutzbaren Glastrichter innen mit einer Schicht Paraffin, dem man, um das Brüchigwerden zu verhindern, etwas Terpentin zugesetzt hat, und kratzt in die Paraffinschicht 6—8 Rillen, bis zu $^2/_3$ der Höhe vom Scheitel des Trichters, so daß die Glasfläche an diesen Stellen bloßliegt. Nun verschließt man das Trichterrohr mit einem Paraffinpflock, füllt den Trichter mit wässeriger Fluorwasserstoffsäure, bedeckt ihn mit einem mit Paraffin überzogenen Uhrglase und läßt 25 Minuten einwirken. Das Paraffin wird dann mittelst heißen Wassers entfernt. Derartige Trichter eignen sich besonders zum Filtrieren gelatinöser Niederschläge.

Noch weit einfacher erreicht man denselben Zweck, nämlich raschere Filtration durch Vergrößerung der filtrierenden Fläche, wenn man an Stelle

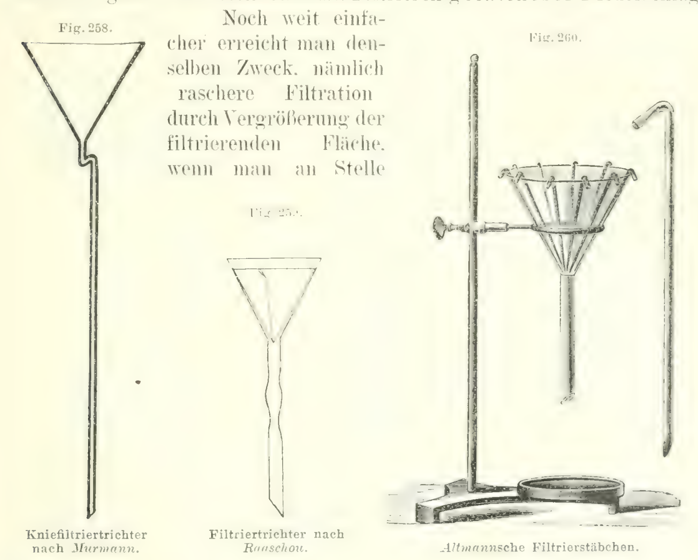


Fig. 258. Kniefiltriertrichter nach *Murmann*.

Fig. 259. Filtriertrichter nach *Raaschou*.

Fig. 260. *Altmann*sche Filtrierstäbchen.

der eingeschnittenen Rillen 6—8 dünne Glasstäbchen in den Trichter hängt, in der Weise, daß zwischen Filtrierpapier und Trichterwandung ein Spielraum bleibt[2]) („*Altmann*sche Filtrierstäbchen") (Fig. 260). Diese Filtriermethode ist uralt.[3])

Zum raschen Filtrieren heißer Lösungen, die sich während des Filtrierens nicht abkühlen sollen, genügt es, das Papierfilter in eine aus

[1]) *H. Spurrier*, Ein Trichter zum schnellen Filtrieren. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 1584 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 134 (1912).

[2]) *G. Giemsa*, Ein neuer und einfacher Schnellfiltrierapparat. Chem.-Ztg. Bd. **28**, S. 752 (1904).

[3]) *E. Letsche*, Zur Geschichte der *Altmann*schen Filtrierstäbchen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 11 (1910). — *H. Schelenz*, desgleichen. Ebenda. Bd. **35**, S. 107 (1911). — *E. Letsche*, desgleichen. Ebenda. Bd. **35**, S. 167 (1911).

dünnem Glasrohr gebogene Spirale einzusetzen, die man in ein eben passendes Becherglas tief hineinhängt.[1]) Die Filtrierfläche ist hier sehr groß, die Masse wärmeentziehenden Materials sehr klein, und die aufsteigenden Dämpfe der bereits durchgelaufenen Flüssigkeit halten das Filter warm (vgl. auch Bd. I, S. 95 und Fig. 181 auf S. 96).

Umgekehrt wie beim Filtrieren mit Glastrichtern kann die das Filter haltende Vorrichtung auch innen, das Filter außen angeordnet sein. So besteht eine im Handel befindliche Filtriervorrichtung[2]) aus einem porzellanenen, gerippten und durchlöcherten Filterkörper, der mit Filtrierpapier umwickelt und durch Gummibänder mit diesem zusammengehalten wird (Fig. 261). Der Filterkörper kommt in einen unten trichterartig zulaufenden Zylinder, welcher auf das

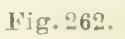
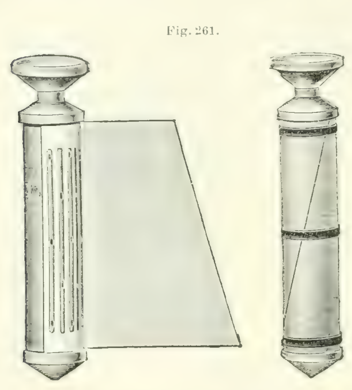
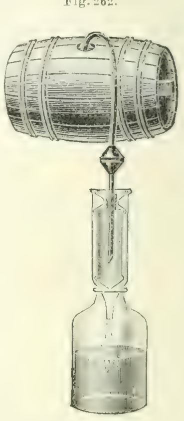


Fig. 261.



Selbsttätiges Filter nach *Kahlert*.

Fig. 262.



Selbsttätige Filtriervorrichtung nach *Kahlert*.

Auffangegefäß gesetzt wird (Fig. 262). (Vgl. im übrigen die Originalabhandlung).

Um Trichter beim Filtrieren auf Bechergläsern zu befestigen, sind von vielen Seiten Trichterstützen vorgeschlagen worden, die auf den Rand der Bechergläser aufgesetzt werden.[3]) Aus Draht gebogene Trichterstützen zeigen Fig. 263[4]) und Fig. 264.[5])

[1]) *H. Stoltzenberg*, Filtrierspirale als Heißwassertrichter. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 738 (1909).

[2]) *A. Kahlert & Co.*, Selbsttätiges Filter. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 660 (1910). — Derselbe, Filter für pharmazeutische und chemische Betriebe. D. R.-P. 250.881; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 542 (1912).

[3]) Vgl. z. B.: *Ph. Blackman*, Neue Trichterstütze. Chem. News. Vol. **104**, p. 30 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 409 (1911). — Derselbe, Ein Filtrierapparat. Chem. News. Vol. **104**, p. 211 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 645 (1911).

[4]) *A. A. Besson*, Neue Filtriergestelle. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 408 (1911).

[5]) *L. D. Havenhill*, Ein geeigneter Trichterhalter. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 62 (1909); Chem. Zentralbl. 1909, I, S. 885.

Zur Herstellung eines Trichterhalters von der zuletzt abgebildeten Form für Trichter bis zu 10 *cm* Durchmesser nimmt man ein ca. 10 *cm* langes Stück Kupferdraht und biegt es um den Trichterhals, bis es die Gestalt einer Zange angenommen hat. Dann öffnet man die Arme dieser Zange und biegt die Enden nach unten, so daß sie Haken bilden, die über den Rand eines Becherglases oder dgl. greifen können. —

Ein einfaches und praktisches Filtrierstativ [1]) für analytische Arbeiten, das das gleichzeitige Filtrieren aus verschiedener Höhe gestattet, ist umstehend abgebildet (Fig. 265). Die dreieckigen Trichterhalter sind aus einem massiven Glasstab gebogen und stecken in einem vertikalen Stabe aus geöltem Hartholz.

Bekanntlich kürzt man das Filtriergeschäft unter Umständen ganz erheblich ab, wenn man zunächst den Niederschlag sich absetzen läßt, dann die klare Flüssigkeit durch das Filter vorsichtig abgießt und erst zuletzt auch den Niederschlag auf das Filter bringt. Nun setzt das wiederholte

Fig. 263.



Trichterstützen nach *Besson*.

Fig. 264.



Trichterstütze nach *Havenhill*.

Heben, Kippen und Wiederniederstellen des Gefäßes beim Abgießen der Flüssigkeit den Niederschlag stets wieder in Bewegung, namentlich wenn er kolloidaler Natur ist. Um diesem Übelstand abzuhelfen, sind Apparate konstruiert worden, die mittelst eines Schraubenganges od. dgl. gestatten, das Gefäß aus der vertikalen Lage in die zum Abgießen nötige schiefe Lage langsam emporzudrehen, bis die Flüssigkeit auf das untergestellte Filter läuft; das Gefäß wird dann in dieser Lage so lange festgehalten, bis das Filter leergelaufen ist und es durch eine weitere Drehung des Gefäßes wieder gefüllt werden kann. Eine derartige Vorrichtung, die ebenfalls schon längst bekannt ist [2]), wurde wieder neuerdings von mehreren Seiten vorgeschlagen. [3]) Fig. 266 zeigt einen solchen Apparat, mit dem

[1]) Nach *Franz Fischer*, Ein Filtrierstativ für analytische Arbeiten. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 279 (1911).

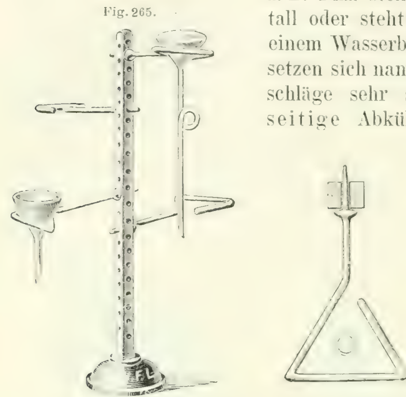
[2]) Siehe z. B.: *J. J. Berzelius*, Lehrbuch der Chemie, übersetzt von *F. Woehler*, 4. Aufl., 1841, Bd. **10**, S. 19, Fig. 1 u. 2.

[3]) *A. Täubel*, Apparat für Massenfiltration. Zeitschr. f. chem. Apparatenkunde. Bd. **3**, S. 45 (1908); Chem. Zentralbl. 1908, I, S. 697.

sich gleichzeitig 6 Gefäße bedienen lassen.[1]) Eine ähnliche, aber selbsttätig funktionierende und elektrisch betriebene Vorrichtung gab *Sinkinson*[2]) an.

Um Niederschläge in heißen Flüssigkeiten rascher zum Absitzen zu bringen, muß man die Gefäße auf ein schlecht die Wärme leitendes Material, z. B. Filz, stellen. Setzt man das Gefäß auf Metall oder steht es nur mit dem Boden auf einem Wasserbade (statt ganz in diesem), so setzen sich namentlich leichte, schleimige Niederschläge sehr schwer ab, weil durch die einseitige Abkühlung bzw. Erwärmung in der Flüssigkeit stets Strömungen entstehen, die den Niederschlag wieder aufrühren.

Fig. 265.

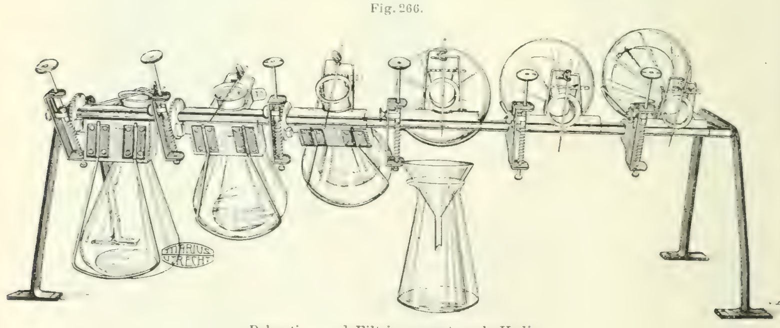


Filtrierstativ nach *Franz Fischer*.

Auf ein Filtriergestell, speziell geeignet für Zuckeranalysen, sei hier nur hingewiesen[3]), ebenso auf die Methoden der Mikrofiltrationen.[4])

Vorrichtungen, die das Abfiltrieren größerer Flüssigkeitsmengen automa-

Fig. 266.



Dekantier- und Filtrierapparat nach *Hudig*.

[1]) *J. Hudig,* Ein Dekantier- und Filtrierapparat. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 298 (1909). — Vgl. dazu: *W. J. Rohrbeck*s Nachf., ebenda, S. 616.

[2]) *E. Sinkinson,* Ein Apparat für automatisches Dekantieren und Auswaschen von Niederschlägen. Chem. News, Vol. **106**, p. 49 (1912).

[3]) *A. Krafft,* Filtriergestell. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **3**, p. 113 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 185 (1911).

[4]) Vgl. namentlich: *F. Emich* und *J. Donau,* Über die Behandlung von kleinen Niederschlagsmengen. Ein Beitrag zur qualitativen und quantitativen mikrochemischen Analyse. Monatsh. f. Chem. Bd. **30**, S. 745 (1909).

tisch besorgen, sind weiter unten in dem Abschnitt „Auswaschen von Niederschlägen“ beschrieben (vgl. auch Bd. I, S. 109 ff.).

b) Filter aus anderem Material als Papier. (S. 97—98.)

Als Filtermaterial wurde vorgeschlagen: Filz[1]), komprimierte Filterwolle[2]), Alundumplatten[3]) (vgl. oben S. 639/40 und unten S. 720), Kollodium[4]) (Ultrafilter), Porzellanmasse[5]), Schrot[6]), Watte[7]), Seesand[8]), amorphes Kalziumkarbonat[9]) u. a.

Um aus großen Mengen einer trüben Flüssigkeit mit der Pipette gleich eine klare Probe ziehen zu können, kann man die Pipette mit einem Hütchen aus Filz versehen.[1]) Man schneidet aus einer 7—8 *mm* starken Filzplatte ca. 5 *cm* lange Streifen, durchbohrt diese in der Mitte der Länge nach nicht ganz mit einer glühenden Nadel und führt die Pipette mit ihrer Spitze voran in die Öffnung ein. An Stelle der Filzstreifen kann man auch einen Streifen Filtrierpapier von etwa 5×5 *cm* Kantenlänge fest um das gerade Rohr an der Spitze der Pipette wickeln und das über die Spitze hinausragende Stück fest zudrehen. Einer derartigen Filtrierpipette bedient man sich z. B. mit Vorteil, um festzustellen, ob eine mit Tierkohle versetzte Flüssigkeit bereits entfärbt ist, ferner um bei quantitativen Fällungsanalysen in einer Probe zu prüfen, ob schon eine ausreichende Menge des Fällungsmittels zugesetzt ist, endlich zu Mikrofiltrationen und zur Filtration von Sera, Sputum usw.

Zur Filtration von Erdöl soll besser als Ton oder Fullererde feiner Schrot geeignet sein, da dieser zugleich entfärbend wirke.[10])

Als Ersatz des Filtrierens durch Seihtücher empfiehlt es sich, wenn kein zu feinkörniger Niederschlag vorliegt und wenn es nur auf Klärung

[1]) *H. Stoltzenberg*, Pipettenhütchen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 378 (1912).

[2]) *W. Bruns*, Praktisches Laboratoriumsfilter. Pharm. Zentralbl. Bd. 53, S. 321 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 233 (1912) und Chem.-Zentralbl. 1912, I, S. 1416.

[3]) *C. Benner* und *H. Ross*, Filtration durch Alundumplatten. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **34**, p. 51 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 233 (1912). — *P. A. Boeck*, Bemerkungen über eine neue Art eines Extraktionsgefäßes. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **4**, p. 303 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 353 (1912).

[4]) *G. Malfitano* und *L. Michel*, Über neue Ultrafilter. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 657 (1911). — *Grenet* und *Salimbeni*, Der den Mikroben durch Filterkerzen mit Kollodiumüberzug entgegengebrachte Widerstand. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 452 (1911). — *R. Zsigmondy-E. Wilke-Dörfurt* und *A. v. Galecki*, Anwendung der Ultrafiltration in der analytischen Chemie. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **45**, S. 579 (1912).

[5]) *F. Grenet* und *P. Boulenger*, Porzellanfiltertrichter für poröse Filtermasse. Chem.-Zeitung. Bd. **35**, S. 856 (1911).

[6]) *Kwitzka*, Bericht der Kaiserl. Russ. techn. Ges. 1910, S. 7; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 115 (1911).

[7]) *v. Heygendorff*, Zum Filtrieren durch Watte. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1187 (1909).

[8]) *H. Durand*, Eine neue Filtriermethode. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **3**, p. 872 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 85 (1912).

[9]) *E. Hatschek*, Die direkte Trennung von Emulsionen durch Filtration und Ultrafiltration. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 143 (1910).

[10]) *Kwitzka*, loc. cit.

des Filtrats ankommt, durch Watte zu filtrieren. Man fügt in einen Trichter zunächst eine kleine *Witt*sche Filterplatte (Bd. I, S. 103, Fig. 203), legt die Watte darauf und bedeckt diese mit einer zweiten, größeren und schwereren Filterplatte.[1])

Die Schwierigkeiten, die sich beim Filtrieren von Bleiazetatlösung, Aluminium- und Eisenhydroxydniederschlägen, gelatinösen Stärkelösungen u. dgl. ergeben, sollen sich überwinden lassen, wenn man einen Büchnertrichter mit doppelten, naß angesaugten Filtrierpapierscheiben versieht und darüber eine 1—1·5 *cm* dicke Schicht von säuregewaschenem, ausgeglühtem Seesand anbringt.[2])

Um Öl-Wasser-Emulsionen zu trennen, filtriert man durch eine Schicht von amorphem Kalziumkarbonat.[3])

Um das Herausfallen der Asbestfüllung aus *Allihn*schen Filtrierröhren beim Tarieren zu vermeiden, wurden Röhren mit kleinen Wulsteindrücken angegeben.[4]) Zu einem speziellen Zweck[5]) wurde ein *Allihn*sches Filtrierrohr aus Kaliglas von 2 *cm* lichter Weite und 30 *cm* Länge mit einem 1 *cm* starken Polster aus geschlämmtem, langfaserigem, feingezupftem Asbest versehen, dieser angesaugt und mäßig fest gestopft und durch Bedecken mit einer Glasperle gestützt. Dieses Filtrierrohr diente dann nach dem Trocknen des Niederschlages gleich als Verbrennungsrohr für die Elementaranalyse.

Eine Verbilligung des *Neubauer*-Tiegels (vgl. Bd. I, S. 97 und 105) bezweckt ein Vorschlag von *Brunck*[6]), wonach in den Siebboden eines gewöhnlichen *Gooch*-Tiegels aus Porzellan eine Filterschicht porösen Platinschwammes fest eingebrannt wird. Der Tiegel verträgt Rotglut, ohne Schaden zu leiden, vorausgesetzt, daß man ihn vorsichtig anwärmt. Die Behandlung ist im übrigen die gleiche wie beim *Neubauer*-Tiegel.

Für Mikrofiltrationen empfiehlt es sich, ein Stückchen Platinblech schalenförmig einzudrücken, es siebartig zu durchlöchern und mit Asbest zu bedecken.[7]) Auch ein Platinfilterschwämmchen wurde zu dem gleichen Zwecke empfohlen.[8])

Um trübe filtrierende Flüssigkeiten zu klären, eignet sich ein Zusatz von Kieselgur. Dies bewährte sich z. B. bei der Beseitigung von Essigtrübungen.[9])

[1]) *v. Heygendorff*, loc. cit.

[2]) *H. Durand*, loc. cit.

[3]) *E. Hatschek*, loc. cit.

[4]) *W. Friese*, Neuer Wägebock. — Verbesserte *Allihn*sche Röhre. Pharm. Zentralblatt. Bd. **50**, S. 506 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 369 (1909).

[5]) *Prettner*, Kohlenstoffbestimmung im Stahl mittelst *Allihn*scher Filtrierrohre. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 578 (1911).

[6]) *O. Brunck*, Ein neuer Filtriertiegel. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 649 (1909).

[7]) *J. Donau*, Über ein Filterschälchen zur Behandlung kleiner Niederschlagsmengen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1213 (1910).

[8]) *J. Donau*, Weitere Versuche über die quantitative Behandlung kleiner Niederschlagsmengen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1233 (1911).

[9]) *H. Wüstenfeld*, Filtration trüber Essige mit Kieselgur. Deutsche Essigindustrie. 1911, S. 230; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 439 (1911).

Man verrührt die Kieselgur mit dem Essig kurze Zeit (1 *kg* auf 100 *l*) und gibt das Gemisch auf das Filter. Es bildet sich eine dichte, aber doch poröse Decke auf der Oberfläche des Filters, so daß eine weitere Essigmenge ohne Vorbehandlung klar filtriert. Ebenso erwies sich Kieselgur als Filtriermaterial zum klaren Filtrieren der Petroleumlösung bei der Bestimmung von Füllstoffen im Kautschuk als sehr geeignet.[1]) Man versieht einen *Gooch*-Tiegel mit einem Filtrierpapierscheibchen und füllt ihn zur Hälfte mit Kieselgur (oder Atmido).

Um ein klares Filtrieren sehr feiner Niederschläge zu erreichen wurde wiederum vorgeschlagen, nasse Filterschnitzel zu zerstoßen, mit viel Wasser aufzuschwemmen und nach dem Absitzen der groben Fasern etwas von der feinen Trübung auf das Filter zu gießen.[2])

c) Filtrieren unter Luftabschluß. (S. 98—99.)

Häufig sind feste Körper, die man von Flüssigkeiten trennen will, oder deren ätherische Lösung man vom Trockenmittel abfiltrieren will, gegen die Feuchtigkeit, den Sauerstoff oder das Kohlendioxyd der Luft empfindlich. In diesem Falle muß man sich einer der Vorrichtungen bedienen, die ein Filtrieren unter Luftabschluß ermöglichen (vgl. Bd. I, S. 99 und 107). Der *Pip*sche Apparat (Bd. I, S. 99, Fig. 191) hat den Nachteil, daß sich der Hahn des Scheidetrichters durch das Trockenmittel leicht verstopft; außerdem erlaubt er nicht, feste hygroskopische Stoffe, die man als solche weiter verarbeiten will, von Flüssigkeiten zu trennen, insbesondere weil der betreffende Körper aus dem engen Trichterhalse nur schwer entfernt werden kann.[3]) Diese Mängel zeigt der umstehend abgebildete Apparat[3]) (Fig. 267) nicht: Auf einer Saugflasche *A* sitzt der Büchnertrichter *B*, der oben einen abgeschliffenen und mit einem nach oben gerichteten Rand versehenen Flansch trägt. Der Trichter wird durch einen mit Tubus versehenen aufgeschliffenen Glasdeckel *C* verschlossen. In den Schliff des Deckels paßt der Vorstoß *D*, der einerseits mit dem gebogenen Rohr *E*, andrerseits mit dem Schliffstück *F* versehen ist, das zur Aufnahme des Reaktionskolbens *G* dient. Die Biegung des Kolbenhalses ist so gewählt, daß beim Drehen des Kolbens nach oben die darin befindliche Flüssigkeit samt Niederschlag leicht in den Vorstoß überfließt. Der Ansatz *H* am Kolben dient während der Reaktion je nach Bedarf zur Aufnahme eines Rückflußkühlers oder eines Gaseinleitungsrohres und beim Abfiltrieren zur Aufnahme eines Scheidetrichters, um so den auf dem Filter gesammelten Niederschlag auswaschen zu können. Der abgeschnittene und glatt

[1]) *Brüggemann*, Über eine Methode zur schnellen Bestimmung von Füllstoffen in Gummimischungen. Gummi-Ztg. Bd. **25**, S. 1529 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 623 (1911).

[2]) *E. Murmann*, Kurze Bemerkungen aus der Laboratoriumspraxis. Österr. Chem.-Zeitung. Bd. **15**, S. 20 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 165 (1912).

[3]) Vgl.: *W. Steinkopf*, Filtrierapparat für hygroskopische und luftempfindliche Substanzen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1358 (1910).

geschliffene, umgekehrte Trichter *J* sorgt für gute Lage des Filtrierpapieres und verhütet ein Spritzen des zu filtrierenden Niederschlages an die Wände des Büchnertrichters. Bei *E* und am Stutzen von *A* bringt man ein Phosphorpentoxydrohr an. Ist die völlige Abwesenheit von Luft erforderlich, so leitet man durch *E* irgend ein indifferentes Gas ein. — Ein ähnlicher Apparat, bei dem das (mit Rührer versehene) Reaktionsgefäß oberhalb des Filters angebracht ist, wurde auch von anderer Seite vorgeschlagen.[1]) Einen praktischen Apparat zum Filtrieren bei —78° und bei vollkommenem Abschluß von Luftfeuchtigkeit gaben ferner *Knorr, Rothe* und *Averbeck*[2]) an. Schon früher wurde eine ähnliche Filtriervorrichtung, die gleichzeitig das Wägen des Niederschlages erlaubte, von *Ruff* vorgeschlagen.[3])

Fig. 267.



Filtrierapparat für hygroskopische und luftempfindliche Substanzen nach *Steinkopf*.

d) Filtrieren in der Kälte und in der Hitze. (S. 99—102.)

Zum quantitativen Abfiltrieren im Goochtiegel bei 0° dient der in Fig. 268 abgebildete Apparat.[4]) Der eigentliche Trichter *B*, der mittelst der Gummihülle *C* den Goochtiegel *D* trägt, ist in den gläsernen Mantel *A* bei *G* eingeschliffen. Die flache Glasschale *E* und der Raum zwischen dem Mantel und dem Trichter wird mit kleinen Eisstückchen gefüllt. Der mit Quetschhahn versehene Abfluß *F* dient zum Ablassen des Schmelzwassers. — Ganz ähnlich ist der nebenstehend abgebildete Apparat konstruiert[5]) (Fig. 269) und die von *Knorr*, *Rothe* und *Averbeck*[6]) angegebene Vorrichtung, die gestattet, bei der Temperatur einer Äther-Kohlendioxydmischung abzufiltrieren (vgl. oben).

[1]) *J. B. Firth* und *J. E. Myers,* Apparat zum Ausfällen, Filtrieren und Trocknen in einem inerten Gase. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 540 (1911).

[2]) *L. Knorr,* Studien über Tautomerie. IV. Mitt.: *L. Knorr, O. Rothe* und *H. Averbeck*, Desmotropie beim Azetessigester. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 1144 (1911).

[3]) *O. Ruff*, Katalytische Reaktionen. I. Aluminiumchlorid. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **34**, S. 1756 (1901).

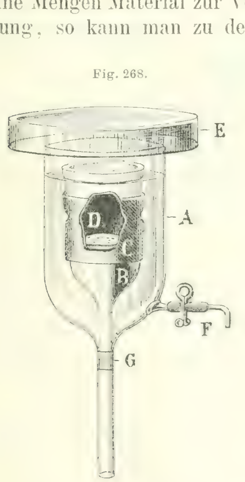
[4]) *K. Serger,* Ein neuer Eistrichter. Pharm. Zentralbl. Bd. **50**, S. 641 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 449 (1909).

[5]) *A. Eisenstein* und *F. Ziffer,* Apparat zum Filtrieren bei konstanter Temperatur. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1330 (1909).

[6]) *L. Knorr*, Studien über Tautomerie. IV. Mitt.: *L. Knorr, O. Rothe* und *H. Averbeck*, Desmotropie beim Azetessigester. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 1140 (1911)

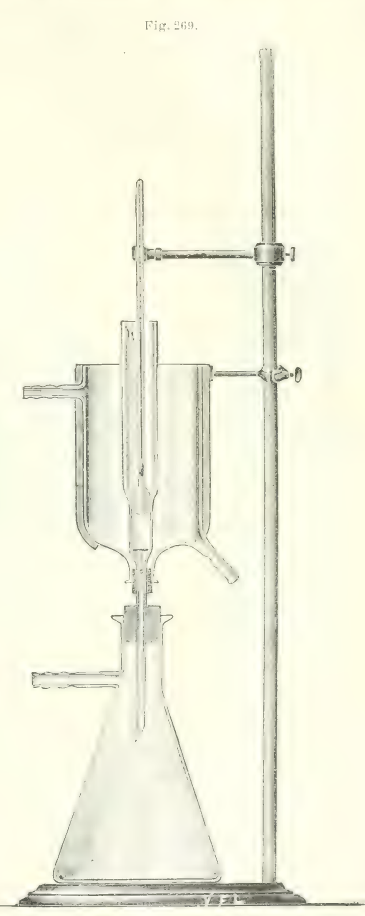
Die Filtration in der Hitze mit Hilfe eines passend geheizten Dampf- oder Heißwassertrichters kann wichtige Anwendung finden zur Trennung zweier Substanzen, die bei gewöhnlicher Temperatur beide fest sind, aber verschieden hoch schmelzen: Man bringt das Gemisch z. B. in einen doppelwandigen Glastrichter (vergl. Bd. I, S. 100, Fig. 196), setzt diesen auf einen Saugkolben, heizt den Trichter mit dem Dampf einer Flüssigkeit, die über dem Schmelzpunkt der einen, aber unter dem Schmelzpunkt der anderen Substanz siedet, und saugt gleichzeitig ab. Die niedriger schmelzende Substanz filtriert dann ab und die höher schmelzende bleibt im Trichter. — Stehen nur kleine Mengen Material zur Verfügung, so kann man zu demselben Zweck auch in der Weise verfahren, daß man das Substanzgemisch auf eine poröse Tonplatte bringt und diese in einem Luftbade längere Zeit einer Temperatur aussetzt, die zwischen den Schmelzpunkten der beiden

Fig. 268.



Eistrichter nach *Serger*.

Fig. 269.



Apparat zum Filtrieren bei konstanter Temperatur nach *Eisenstein* und *Ziffer*.

Substanzen liegt. Den geschmolzenen und vom Ton aufgesogenen Anteil des Materials kann man durch Extraktion mit Äther oder dgl. aus der Tonplatte wieder gewinnen. Das Verfahren empfiehlt sich auch häufig zum Befreien fester Substanzen von öligen Beimengungen.

2. Filtrieren an der Saugpumpe. (Vgl. S. 102—108.)

Zum Filtrieren großer Mengen Flüssigkeit eignet sich der beistehend abgebildete Apparat (Fig. 270), der das Entleeren der vollgelaufenen Saugflasche wesentlich erleichtert.[1] Der mit der Pumpe verbundene Tubus der Saugflasche trägt einen Dreiweghahn, unten befindet sich ein weitgebohrter Ablaßhahn. Um die Flasche zu entleeren, braucht man die Nutsche nicht abzunehmen: man öffnet nur den Dreiweghahn gegen die äußere Luft und dann den Ablaßhahn. Einen ähnlichen Zweck erfüllt die von *Kleemann*[2]) angegebene Vorrichtung, die aber zum getrennten Auffangen von Filtrat und den verschiedenen Waschflüssigkeiten drei getrennte Kammern enthält (Fig. 271). Ebenfalls zum kontinuierlichen Filtrieren großer Flüssigkeitsmengen an der Saugpumpe dient ein von anderer Seite vorgeschlagener, etwas komplizierter Apparat.[3]) Das getrennte Auffangen von Filtrat und Waschwässern ermöglicht ferner eine von *Williams*[4]) angegebene Vorrichtung, die aus einem Dreiweghahn und zwei Saugkolben besteht.

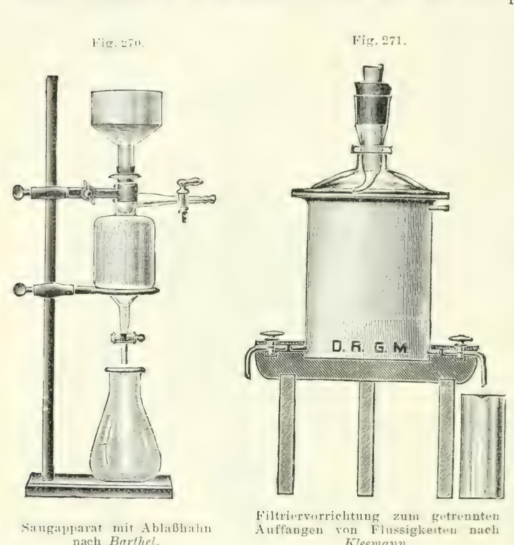


Fig. 270. Saugapparat mit Ablaßhahn nach *Barthel*.

Fig. 271. Filtriervorrichtung zum getrennten Auffangen von Flussigkeiten nach *Kleemann*.

Ein Goochtiegel in Rohrform, also eine kleine *Büchner*sche Nutsche (Bd. I, S. 104, Fig. 208), wurde für quantitative Arbeiten von

[1]) *A. Barthel*, Saugapparat mit Ablaßhahn. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 18 (1910).

[2]) *Kleemann*, Filtriervorrichtung zum getrennten Auffangen von Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 506 (1912).

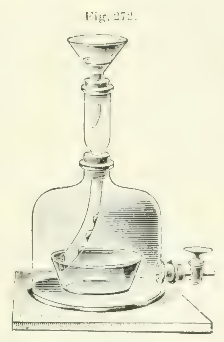
[3]) *F. & M. Lautenschläger*, Apparat zum kontinuierlichen Filtrieren unter Vakuum. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 587 (1910).

[4]) *C. S. Williams jun.*, Ein befriedigender Filtrierapparat. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **4**, p. 222 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 265 (1912).

Murmann[1]) empfohlen. Eine neue Befestigungsart für Goochtiegel, nämlich durch aufblasbare Gummireifen, schlug *Forbes*[2]) vor.

Um in ein beliebiges Gefäß mit enger Öffnung (Meßkolben, Reagenzglas od. dgl.) unter Anwendung der Pumpe hineinfiltrieren zu können, kann man den Trichter in ein T-Rohr einsetzen und dessen entgegengesetzten Schenkel mittelst Gummistopfen auf das betreffende Gefäß luftdicht aufsetzen.[3]) Man erspart auf diese Weise oft das Umgießen des Filtrates in ein anderes Gefäß, was besonders bei quantitativen Arbeiten störend und unbequem ist.

Fig. 272.



Filtriervorrichtung für die quantitative Analyse nach *Murmann*.

Fig. 273.



Absaugetrichter aus Porzellan nach *Meysahn*.

Um in ein beliebiges Gefäß mit weiter Öffnung (Kristallisier- oder Abdampfschale, Becherglas oder dgl.) unter Saugen hineinzufiltrieren, bedient man sich des in Fig. 272 abgebildeten Apparates, der hauptsächlich für quantitative Arbeiten berechnet ist.[4]) Er ist ähnlich der schon früher von *Witt* angegebenen Vorrichtung (vgl. Bd. I, S. 106, Fig. 212). Um ein Verspritzen des Filtrats zu vermeiden, hat das Rohr, in dem der Trichter befestigt ist, an der Außenseite der sichelförmigen Biegung einige innere Buckel, die die Tropfen aufhalten, und ist am unteren Ende so abgeschrägt, daß die Tropfen von der äußeren Seite abfallen.

Fig. 274.



Goochtiegel nach *Richards*.

Als Ersatz der teuren Platinkonusse beim Absaugen in der quantitativen Analyse wurde ein siebartig durchlöcherter Porzellantrichter vorgeschlagen[5]) (Fig. 273).

Auch bezüglich der Goochtiegel wurden einige bemerkenswerte neue Vorschläge gemacht. Für quantitative Bestimmungen eignen sich Goochtiegel mit angeschweißtem verbreiterten Rande; der Rand erleichtert nicht

---

[1]) *E. Murmann*, Ein neuer Tiegel, der „Rohrtiegel". Wiener Monatsh. f. Chem. Bd. **19**, S. 403 (1898).

[2]) *W. R. Forbes*, Ein verbessertes Goochfilter. Chem. News. Vol. **105**, p. 27 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 193 (1912).

[3]) *F. Michel*, Saugtrichter. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1193 (1910). — Vgl.: *Th. Grzeschik*, Einige neue Laboratoriumsapparate. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 949 (1910).

[4]) *E. Murmann*, Eine Vereinfachung der Gewichtsanalyse. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **50**, S. 742 (1911).

[5]) *W. Meysahn*, Absaugetrichter für chemisch-analytische Zwecke. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **23**, S. 250 (1910).

nur ein verlustloses Beschicken des Tiegels, sondern schützt diesen auch vor Formänderungen durch Druckwirkung[1]) (Fig. 274).

Um bei quantitativen Arbeiten auch an der Saugpumpe klar abfiltrieren zu können und so die Arbeit erheblich zu beschleunigen, empfiehlt es sich, das Filter durch aufgeschwemmte Papiermasse dicht zu machen (vgl. oben) und schleimige Niederschläge mit feinster Reisstärke, Quecksilbersulfid oder Papiermasse zu mischen.[2]) Ebenfalls zum Zurückhalten der feinsten Niederschläge beim Absaugen dienen besonders konstruierte Porzellanfiltertrichter[3]) oder Alundumplatten[4]) (vgl. S. 639). Diese letzteren befinden sich, mit Poren verschiedener Größe versehen, im Handel. Man wählt die Porenweite der Filterplatte je nach der Beschaffenheit des zu filtrierenden Niederschlages. Mittelst eines gewöhnlichen flachen Gummibandes, das fest um die Platte gelegt wird, schmiegt sich diese fest an die Wandungen des Trichters an, sobald evakuiert wird. Der Gebrauch dieser Filterplatten macht die Benutzung von Asbestfasern überflüssig und ermöglicht es, die Niederschläge umzurühren, ohne daß eine Verschiebung oder Verletzung des Filtermaterials zu befürchten ist.

Oft läßt sich ein klares Filtrieren sehr feinkörniger Niederschläge dadurch erzielen, daß man sie längere Zeit unter der womöglich heißen Mutterlauge stehen läßt; infolge der größeren Löslichkeit der feinkörnigen Substanzteilchen gehen diese allmählich in Lösung und scheiden sich wieder an den größeren Teilchen ab, die also noch größer wachsen (vgl. Bd. I, S. 13[5]). — Bei der Fällung von Kalziumoxalat erhält man eine klar filtrierende Flüssigkeit, wenn man die neutrale, essigsaure oder schwach salzsaure Lösung des Kalksalzes mit kalter oder heißer Oxalsäurelösung fällt, kocht und dann langsam genügende Mengen Ammoniumazetat zugibt.[6])

Nach *Holderer*[7]) gehen Lösungen von Diastasen (z. B. Sucrase-Maische von Aspergillus niger) durch Filterkerzen nur dann hindurch, wenn sie mit Phenolphtalein (oder Methylorange) neutralisiert worden sind, andernfalls nicht.

Bakteriendichte Filterkerzen (vgl. Bd. I, S. 106) dienen dazu, das destillierte Wasser der Apotheken, das reichlich von Bakterienwucherungen

[1]) *Th. W. Richards,* Abgeänderte Form des Goochtiegels. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 1146 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 573 (1909).

[2]) *E. Murmann,* Eine Vereinfachung der Gewichtsanalyse. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **50**, S. 742 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 585 (1911).

[3]) *F. Grenet* und *P. Boulenger,* Porzellanfiltertrichter für poröse Filtermasse. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 856 (1911).

[4]) *C. Benner* und *H. Roß,* Filtration durch Alundumplatten. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **34**, p. 51 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 233 (1912).

[5]) *F. W. Küster,* Lehrbuch der allg., physik. und theor. Chemie. Heidelberg (C. Winter) 1907. S. 380.

[6]) *E. Murmann,* Über die Fällung von Kalziumoxalat. Österr. Chem.-Ztg. Bd. **12**, S. 305 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 33 (1910).

[7]) *M. Holderer,* Einfluß der Reaktion auf die Filtration einiger Malzdiastasen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 187 (1910).

durchsetzt ist, bakterienfrei zu machen, was durch Sterilisieren nur schwer zu erreichen ist.[1])

Die „wirksame Porengröße“ beträgt bei *Berkefeld*-Filtern (Liliputkerzen) wahrscheinlich ca. 0·5 μ. Staphylokokken und diesen an Größe nahestehende Kokken passieren das Filter nicht, dagegen geht das Spirillum parvum, das kleinste unter allen sichtbaren Bakterien, bei einer Kerzendicke von 2·5 *cm* zu 80% durch das Filter.[2]) Über die Filtration von kolloiden Stoffen, speziell von Serum, durch *Berkefeld*-Kerzen liegen Angaben von demselben Forscher vor.[3])

Um die Poren der Filterkerzen noch mehr zu verengern, kann man diese mit einem Kollodiumüberzug versehen: Man taucht die *Chamberland*-Kerze, um ein für Flüssigkeiten gut durchlässiges Filter zu erhalten, sofort nach dem Überziehen mit Kollodium einige Sekunden in Wasser, dem man 50% Glyzerin zugesetzt hat. Der Glyzerinzusatz bewirkt, daß das Kollodium gut an der Kerze haftet und diese ihre Filtrierfähigkeit lange bewahrt. Um andrerseits die Entwicklung von Schimmel auf der Kollodiumschicht zu verhüten, gibt man zu dieser etwas Formaldehyd hinzu.[4])

Die Priorität betreffs der Filterkerzen dürfte übrigens nicht *Chamberland*, sondern *Gautier*[5]) gebühren, der sie zur Filtration von Magensaft verwandte.

Auch für die Zwecke der quantitativen Analyse erweisen sich Kollodiumhäute als Filtermaterial sehr wertvoll.

Zur Herstellung der Kollodiumfilter[6]) gießt man eine Mischung von 200 cm^3 6%igem käuflichen Kollodium, 200 cm^3 Äther und 500 cm^3 absolutem Alkohol auf eine Spiegelglasplatte, wobei man durch sehr langsames Ausgießen aus nicht zu großer Höhe Luftblasen sorgfältig vermeidet, sorgt durch Schwenken für eine gleichmäßige Verteilung der

[1]) *P. Ehrlich*, Über Laboratoriumsversuche und klinische Erprobung von Heilmitteln. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 637 (1912). — Über die Gewinnung keimfreien destillierten Wassers siehe auch: *W. Boehm*, Frischdestillation und Sterilisation von Wasser, insbesondere für chemotherapeutische Zwecke. D. R.-P. 251.319; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 558 (1912).

[2]) *P. Schmidt*, Über den Mechanismus der Bakterienfiltration mit *Berkefeld*-Filtern. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh. Bd. **65**, S. 423 (1910); Chem. Zentralbl. 1910, II, S. 100. — Siehe auch: *E. Hesse*, Weitere Studien über den Bakteriennachweis mit dem *Berkefeld*-Filter. Zeitschr. Hyg. Bd. **70**, S. 311 (1911).

[3]) *P. Schmidt*, Über die Kolloid-Natur des Komplements. Zeitschr. f. Chem. u. Ind. der Kolloide. Bd. **11**, S. 6 (1912).

[4]) *Grenet* und *Salimbeni*, Der den Mikroben durch Filterkerzen mit Kollodiumüberzug entgegengebrachte Widerstand. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 452 (1911). — Vgl.: Société Anonyme du Filtre Chamberland Système Pasteur, Paris, Herstellung von Filterkerzen und anderen Filterkörpern. D. R.-P. 249.123; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 441 (1912).

[5]) *A. Gautier*, Über die Porosität von Filterkerzen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1384 (1910).

[6]) *R. Zsigmondy*, *E. Wilke-Dörfurt* und *A. v. Galecki*, Anwendung der Ultrafiltration in der analytischen Chemie. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **45**, S. 579 (1912).

Flüssigkeit auf der Platte und wartet, bis der meiste Äther verflüchtigt ist und das Kollodium nicht mehr klebt. Filter samt Platte werden hierauf in Wasser getaucht; nach ca. 5—10 Minuten läßt sich das Filter leicht von der Unterlage ablösen. Unter Wasser lassen sich diese Filter längere Zeit aufbewahren, ohne ihre Beschaffenheit zu verändern. Zum Gebrauch wird der Siebboden eines Porzellantrichters zunächst mit einem gewöhnlichen, benetzten, aschefreien Papierfilter bedeckt, sodann das Kollodiumfilter darauf gelegt. Unter Saugen an der Filtrierflasche drückt man das Filter vorsichtig gegen die Trichterwand, bis es sich fest und luftdicht an diese angesaugt hat. Man filtriert nun wie durch ein gewöhnliches Filter, am besten unter kräftigem Evakuieren. Da diese Kollodiumfilter sogar für die Ultramikronen vieler Kolloidlösungen vollkommen undurchlässig sind, ist die Gewähr gegeben, daß selbst die feinsten Suspensionen quantitativ zurückgehalten werden. Das Filter eignet sich z. B. zum Filtrieren von Chlorsilber und Baryumsulfat, ferner der feinen Palladiumaufschlämmungen, wie sie bei dem Reduktionsverfahren nach *Paal* und nach *Skita* (vgl. Bd. IV, S. 774) im Reaktionsgemisch vorhanden sind. Die geringe Dicke, Aschenfreiheit, Festigkeit und Glätte der Kollodiumfilter bieten eine Reihe von Vorteilen.[1]) (Über Ultrafilter aus Kollodium siehe dieses Handbuch, Bd. V, zweiter Teil, S. 1086 ff.)

3. Auswaschen von Niederschlägen. (S. 108—111.)

Die zahlreichen Vorrichtungen, die ein automatisches Auswaschen eines abfiltrierten Niederschlages ermöglichen, sind um eine sehr große Zahl Neukonstruktionen noch weiter vermehrt worden. Alle diese Apparate sind natürlich ohne weiteres auch zum automatischen Abfiltrieren größerer Flüssigkeitsmengen mehr oder weniger geeignet, ferner zum automatischen Nachfüllen einzudampfender Flüssigkeiten in die Abdampfschale, als Niveauhalter beim kontinuierlichen Speisen von Wasserbädern u. dgl.

Die einfachste Art, ein Filter mit der in einem größeren Gefäß enthaltenen Wasch- (oder Filtrier)flüssigkeit dauernd randvoll zu halten, bis alles durchfiltriert ist, besteht zweifellos darin, daß man einen Kolben mit der Waschflüssigkeit füllt, ihn mit einem weiten, gebogenen Glasrohr versieht, dieses mit dem Finger verschließt und den Kolben umgekehrt über dem Filter so anbringt, daß das gebogene, nun freigegebene Rohr dicht unter dem Filterrand endigt (vgl. Bd. 1, S. 109, Fig. 220). Eine ganz ähnliche Arbeitsweise findet sich bereits von *Berzelius* erwähnt [2]): Der die zu filtrierende Flüssigkeit enthaltende Kolben wird ohne weitere Vorrichtung umgekehrt über dem Filter in einem Stativ so eingespannt, daß die Mün-

[1]) *R. Zsigmondy, E. Wilke-Dörfurt* und *A. v. Galecki,* Anwendung der Ultrafiltration in der analytischen Chemie. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **45**, S. 579 (1912).

[2]) *J. J. Berzelius,* Lehrbuch der Chemie, übersetzt von *F. Woehler.* 4. Aufl. 1841, Bd. **10**, S. 269 und Taf. II, Fig. 20 und 21; vgl. auch S. 220 und Fig. 12 und 13.

dung des Kolbenhalses eben unter dem Niveau der Flüssigkeit im Filter steht. Zum Verschließen des Kolbens in dem Augenblick, wo man ihn umkehrt, kann man sich eines an einem gebogenen Draht befestigten Stopfens bedienen, den man nach dem Umkehren wieder herauszieht, oder eines mit der Flüssigkeit gefüllten Platinlöffels od. dgl., mit dem man den schon umgekehrten Kolben während seiner Überführung in seine Betriebsstellung verschließt. Noch bequemer ist die ebenfalls schon von *Berzelius*[1]) angegebene Methode, einen Scheidetrichter mit sehr weit gebohrtem Glashahn als Reservoir für die Filtrier- oder Waschflüssigkeit zu benutzen. Man läßt den Stiel des Scheidetrichters in derselben Weise, wie oben für den Kolbenhals beschrieben, in die auf dem Filter befindliche Flüssigkeit eintauchen, beschickt den Scheidetrichter dann mit der betreffenden Flüssigkeit, schließt oben den Glasstopfen und öffnet den Hahn. *Berzelius* nannte dieses Instrument Nachgießer und empfahl es als unschätzbar wegen der Ersparung an Zeit und Aufsicht. Langsame Filtrationen gehen mit seiner Beihilfe Tag und Nacht fort. Dieselbe Vorrichtung für den Gebrauch am Goochtiegel wurde vor kurzem wiederum als neu vorgeschlagen.[2]) An Stelle eines Scheidetrichters der gewöhnlichen Art kann man mit Vorteil eine dem *Bulk*schen Tropftrichter[3]) (vgl. oben S. 664) nachgebildete Vorrichtung[4]) benutzen, die man sich leicht selbst zusammenstellen kann (Fig. 275). Man bringt den zylindrischen Behälter, der die zu filtrierende Flüssigkeit oder das Waschwasser enthält, so über dem Filter an, daß seine untere Öffnung etwas unterhalb des Filterrandes endigt. Der Stopfen A wird durch einen luftdicht, aber vertikal verschiebbar in den oberen Stopfen eingesetzten Glasstab betätigt. Der seitliche Tubus dient zum Füllen und eventuell Nachfüllen des Gefäßes. Ebenfalls auf demselben Prinzip beruht die in Fig. 276 abgebildete automatische Filtriervorrichtung[5]), die ein besonders sauberes Arbeiten gestattet und daher auch für die quantitative Analyse geeignet ist.

Fig. 275.



Vorrichtung zum kontinuierlichen Filtrieren von Flüssigkeiten nach *Fitzgerald*.

Die bisher besprochenen automatischen Auswaschvorrichtungen haben für den Austritt der Flüssigkeit und den Eintritt der sie ersetzenden Luft

---

[1]) *J. J. Berzelius*, l. c. S. 270.

[2]) *D. B. W. Alexander*, Anordnung für Filtration bei konstantem Niveau. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 1052 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 561 (1909).

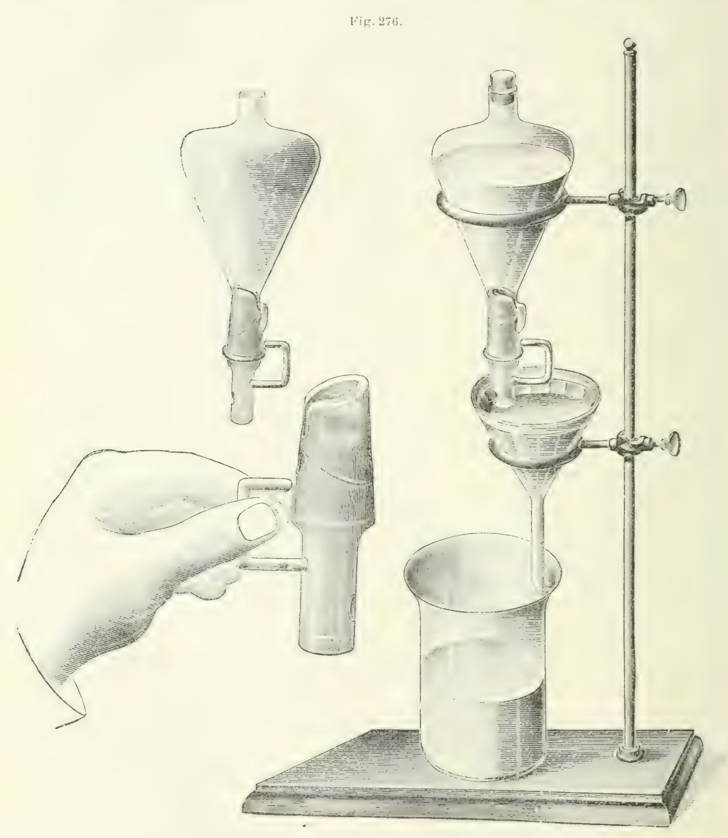
[3]) *C. Bulk*, Über einen einfachen Scheidetrichter. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **9**, S. 1898 (1876).

[4]) *W. P. Fitzgerald*, Vorrichtung zum kontinuierlichen Filtrieren von Flüssigkeiten. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 839 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 449 (1909).

[5]) *H. Leiser*, Neuerungen in Laboratoriumsapparaten. II. Selbsttätiger Filtriertrichter für die quantitative Analyse. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **20**, S. 999 (1907).

sämtlich einen gemeinsamen Kanal, der daher entsprechend weit gewählt sein muß. Gesonderte Öffnungen für Flüssigkeitsaustritt und Lufteintritt sind in den folgenden Apparaten vorgesehen, die daher ruhiger und, luftdicht schließende Stopfen vorausgesetzt, auch wohl sicherer funktionieren

Fig. 276.

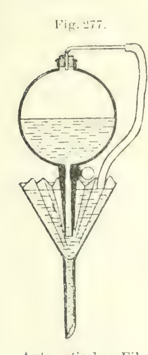


Selbsttätige Filtriervorrichtung für die quantitative Analyse nach *Leiser*.

als die Vertreter des anderen Typs. Diese Apparate sind so eingerichtet, daß sich im Trichter die Flüssigkeitsöffnung tiefer als die Luftöffnung befindet, jene also der Filterspitze, diese dem Filterrande nahe ist. Wie man sich aus einem Scheidetrichter mit weiter Hahnbohrung einen derartigen Apparat

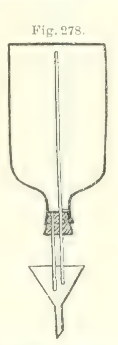
zusammenstellt [1]), zeigt Fig. 277. Man kann sich zu demselben Zweck auch einer gewöhnlichen Flasche bedienen [2]) (vgl. Fig. 278). Diese letzten beiden Vorrichtungen haben aber bei ihrer Anwendung zum automatischen Filtrieren den großen Nachteil, daß der Niederschlag gleich zu Beginn der Filtration auf das Filter gelangt und somit die Filtration beträchtlich verlangsamt. Durch einen kleinen Kunstgriff kann man diesen Übelstand bei dem zuletzt erwähnten Apparat beseitigen [3]): man zieht das Flüssigkeitsaustrittsrohr etwas über den Gummistopfen hoch, so daß sich der Niederschlag unterhalb der Auslaufstelle ansammelt. Durch einfache Dekantation kann man dann den Niederschlag auswaschen. Will man ihn zum Schluß abfiltrieren, so wird das Ausflußrohr in die gezeichnete Stellung gebracht. Während des Dekantierens wird mittelst eines angesetzten Gummischlauchs der richtige Niveauunterschied zwischen dem Flüssigkeitsauslauf- und dem Lufteintrittsrohr hergestellt. Ferner ist bei dem Apparat darauf zu achten, daß das Luftrohr sehr weit sei, da es beim Betrieb Flüssigkeit ansaugt: Ist es zu eng, so kann der Ablauf oft minutenlang stocken. Regelmäßige Erneuerung des Niveaus tritt ferner dann sicher ein, wenn beide Röhren des Apparates kurz in die Vorratsflasche hineinragen und das Luftzuführungsrohr unten abgeschrägt ist. [4])

Fig. 277.



Automatisches Filtrieren nach *Hamlin.*

Fig. 278.



Selbsttätige Filtriervorrichtung nach *Rixon.*

Auf dem Prinzip der *Mariotte*schen Flasche beruht, ebenso wie die Mehrzahl der bisher erwähnten Vorrichtungen, der in Fig. 279 dargestellte Nachfüllapparat. [5])

Sind sehr große Flüssigkeitsmengen zum Filtrieren oder Auswaschen nachzufüllen, so daß es unbequem ist, die schweren Vorratsgefäße über dem Filter umgekehrt aufzuhängen, so stellt man sie besser neben dem Filter auf und wendet das Prinzip des Hebers an. Fig. 280 zeigt eine derartige Anordnung in ihrer Anwendung als Niveauhalter beim Eindampfen einer Flüssigkeit auf dem Wasserbade [6]) (vgl. auch die ganz gleiche ältere Apparatur Bd. I, S. 109, Fig. 219).

---

[1]) *L. Hamlin,* Ein automatisches Filter. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. 33, p. 1584 (1911); Chem.-Ztg. Bd. 36, Rep. S. 233 (1912).

[2]) *F. W. Rixon,* Einfache Filtriervorrichtung für größere Flüssigkeitsmengen. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 1397 (1911).

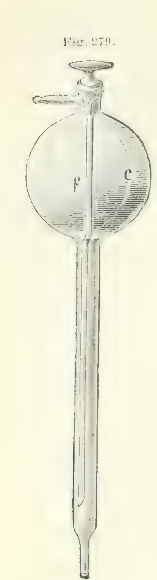
[3]) *H. Rabe,* Zuschrift an die Redaktion. Chem.-Ztg. Bd. 36, S. 140 (1912).

[4]) *F. Müller,* Zuschrift an die Redaktion. Chem.-Ztg. Bd. 36, S. 140 (1912).

[5]) *E. Schirm,* Selbsttätiger Universalnachfüllapparat. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 1333 (1911).

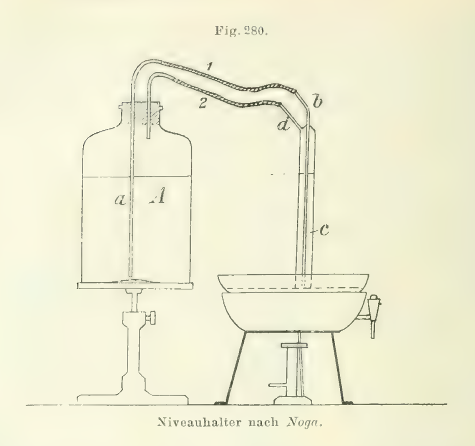
[6]) *E. Noga,* Niveauhalter. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 997 (1911).

Fig. 279.



Selbsttätiger Nachfüllapparat nach *Schirm*.

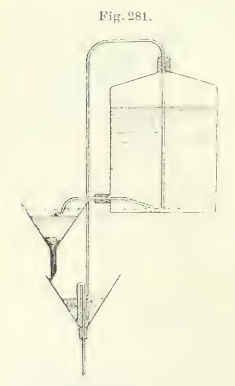
Fig. 280.



Niveauhalter nach *Noga*.

Selbstverständlich kann man auch einfach auf die Weise einen Niederschlag automatisch auswaschen, daß man das hochgestellte Vorratsgefäß durch einen gewöhnlichen Abflußheber mit dem Trichterraum verbindet und den Zufluß des Hebers durch einen Quetschhahn oder dgl. so regelt, daß in dem Trichter genau so viel zu- als aus ihm abfließt [1]), was aber natürlich nicht ganz leicht für längere Zeit zu erreichen ist.

Fig. 281.



Selbsttätig arbeitende Waschvorrichtung nach *Grégoire*.

Alle die bisher angeführten automatischen Auswaschvorrichtungen verstoßen für ihre Anwendung bei quantitativen Arbeiten gegen den Grundsatz, daß man, um mit möglichst wenig Waschflüssigkeit auszukommen, den Trichter erst ganz leer laufen lassen soll, ehe man eine neue Portion der Waschflüssigkeit auf das Filter bringt. [2]) Der nebenstehend abgebildete Apparat (Fig. 281) trägt dieser Forderung Rechnung. [3]) Eine *Mariotte*sche Flasche mit einem seitlichen Tubus etwas oberhalb des Bodens ent-

[1]) Über eine unzweckmäßig komplizierte Verwirklichung dieses Gedankens vgl.: *Fr. C. Bellaire-Wörschweiler,* Selbsttätiges Abfiltrieren von Lösungen bei konstantem Niveau. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 880 (1911). — Hierzu: *F. Müller,* ebenda. Bd. **36**, S. 140 (1912).

[2]) Vgl.: *W. Ostwald,* Die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie. 5. Aufl. 1910.

[3]) *Ach. Grégoire,* Automatisch arbeitende Waschvorrichtung. Bull. Soc. Chim. de Belgique. T. **24**, p. 223 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 289 (1910).

hält die Waschflüssigkeit. Auf dem oberen Trichter ruht die zu waschende Substanz. Das Ablaufrohr des unteren Trichters ist mit einem Stopfen verschlossen, durch den ein kleines Siphonrohr aus Glas hindurchführt. Das Luftzuführungsrohr der *Mariotte*schen Flasche endet auf dem Grunde dieses zweiten Trichters einige Millimeter oberhalb der Mündung des kleinen Siphonrohrs. Der Fassungsraum der beiden Trichter ist genau gleich groß. Der Apparat betätigt sich nun folgendermaßen: Die ersten Mengen des aus dem oberen Trichter ablaufenden Waschwassers sammeln sich in dem unteren Trichter an und verhindern den Luftzutritt zur *Mariotte*schen Flasche, so daß der Abfluß aus dieser zum Stillstand kommt. Allmählich steigt die Flüssigkeit im unteren Trichter an, erreicht das Abflußsiphonrohr und wird abgehebert. Hierdurch ist der Luftzutritt zur *Mariotte*schen Flasche frei geworden und der obere Trichter, der zu demselben Zeitpunkt gerade leer gelaufen ist, füllt sich mit einer neuen Portion frischer Waschflüssigkeit, worauf das Spiel von vorn anhebt.

Zum automatischen Auswaschen von Niederschlägen eignen sich ferner alle die Extraktionsapparate (Soxhlet usw.), die zum selbsttätigen Extrahieren fester Körper durch Flüssigkeiten dienen (siehe weiter unten den Abschnitt: „Selbsttätige Extraktion von festen Körpern“ und Bd. I, S. 182).

4. Filtrieren unter Druck, Auspressen von Niederschlägen. (S. 111—112.)

Eine kleine tragbare Presse, speziell zur raschen Herstellung von Gewebesäften in der Kälte, wurde von *de Rey-Pailhade*[1]) angegeben; sie liefert mittelst beweglicher Scheiben klaren Fleischsaft im halben Gewicht der gestreiften Muskeln. —

Über die Gewinnung ätherischer Öle durch Pressung von Pflanzenteilen vgl. *K. Bartelt*, dieses Handbuch, Bd. II, S. 992.

II. Trennen auf Grund verschiedenen spezifischen Gewichtes. (Vgl. S. 112—121.)

1. Dekantieren und Abhebern. (S. 113—115.)

Eine neue Form eines Erlenmeyerkolbens[2]) zeigt Fig. 282. Ähnlich wie der *Bolton*-Kolben (Bd. I, S. 114, Fig. 229 und 230) eignet er sich zum Dekantieren, ferner treten beim Durchleiten von Gasen durch Flüssigkeiten nicht leicht Verluste durch Verspritzen ein. —

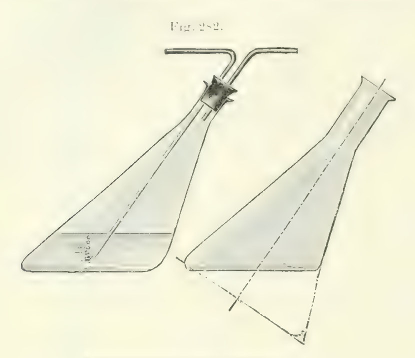
Von der Unzahl neu vorgeschlagener Heber seien hier nur einige wenige sinnreiche Konstruktionen angeführt, die von prakti-

[1]) *de Rey-Pailhade*, Presse zur Herstellung von Gewebssäften nach *A. Petit*. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 756 (1911).

[2]) *E. Herzka*, Analysenkolben. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 918 (1910).

schem Wert erscheinen. Der nebenstehend abgebildete Heber[1]) (Fig. 283) hat ein kegelförmiges Schwimmerventil C, das sich in einem passenden Kanal leicht bewegt und ihn mit seinem unteren geschliffenen Ende verschließt. Wird der Heber mit seiner linken Seite in eine Flüssigkeit getaucht, so hebt diese das Ventil

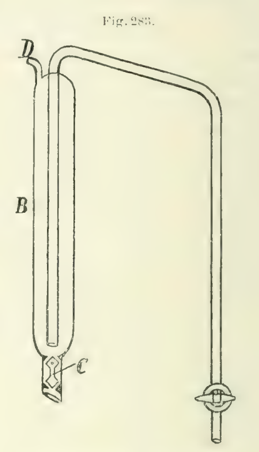
Fig. 282.





Analysenkolben nach *Herzka*.

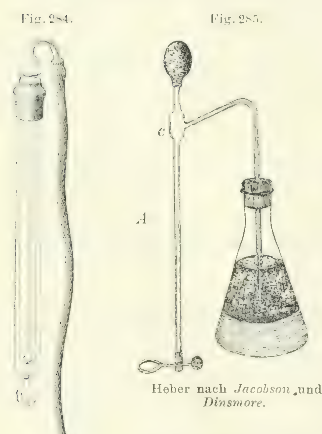
Fig. 283.



Sicherheitsheber nach *Niemann*.

und steigt in den Mantel B. Beim Eindrücken von Luft (z. B. mittelst Gummigebläses) durch den Stutzen D schließt sich dann das Ventil und der Heber tritt in Funktion. — Einen Heber, der gleichzeitig eine Luftpumpe mit zwei Glaskugelventilen darstellt, zeigt Fig. 284.[2]) Der Apparat besteht aus zwei Röhren, einer äußeren und einer inneren, die ineinander leicht beweglich und durch einen Gummiring miteinander dicht verbunden sind. Dieser Gummiring ist aus gutem Kautschuk hergestellt, und durch Anätzen mit konzentrierter Schwefelsäure wird ein Festkleben am Glase verhindert. Der Heber wird durch ein- bis zweimaligem Hub des Saugschenkels (inneres Rohr) in Betrieb gesetzt, der Abflußschenkel besteht aus einem alkali- und säurefesten Gummischlauch. Eine andere Heberkonstruk-

Fig. 284. Fig. 285.



Selbsttätiger Saugheber nach *Kling*.

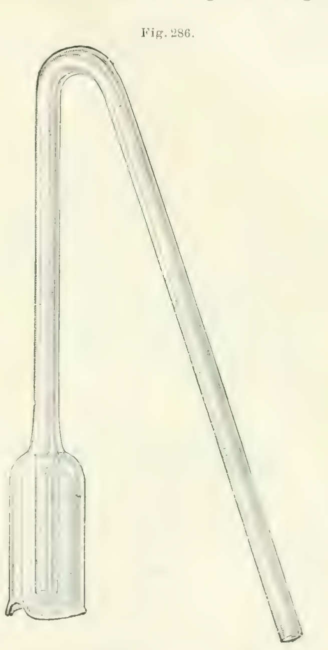
Heber nach *Jacobson* und *Dinsmore*.

[1]) *W. Niemann*, Glasheber zum bequemen und gefahrlosen Abfüllen. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 507 (1909).

[2]) *K. Kling*, Ein automatischer Saugheber. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 32 (1912).

tion[1]) (Fig. 285) wird durch einen Gummiball betätigt. Der Schenkel *A* besteht aus einem Kapillarrohr mit 2 *mm* weiter Bohrung; er kann in dem Korken, der einen Schlitz trägt, leicht verschoben werden. Die Kugel *c* faßt etwa 5 *cm*³. Man drückt bei geschlossenem Quetschhahn den Gummiball; läßt man ihn los und öffnet den Quetschhahn, so tritt der Heber in Tätigkeit. — Am einfachsten wirkt der in Fig. 286 abgebildete Heber[2]): er erfordert weder ein Anblasen noch ein Ansaugen; sobald er mit dem kürzeren, einen kleinen Luftkessel tragenden Schenkel in die Flüssigkeit eingetaucht wird, beginnt er ganz selbsttätig zu laufen. Beim Eintauchen des Hebers in die Flüssigkeit wird nämlich die Luft in dem Luftkessel komprimiert; sie entweicht durch eine kleine Öffnung des Saugrohrs (siehe die Abbildung) in dieses und reißt die Flüssigkeit mit nach oben. Die sich bildende Säule von Flüssigkeit und Luftblasen steigt schnell bis zur Scheitelhöhe des Hebers, und sobald diese überschritten ist, tritt dauerndes Fließen des Hebers ein. — Bezüglich einiger anderer Hebervorrichtungen sei auf die Literatur verwiesen.[3])

Fig. 286.



Selbsttätiger Flüssigkeitsheber nach *Rose*.

2. Schlämmen. (S. 115.)

Zur Trennung von graphitichem Kohlenstoff (spez. Gew. 2·2) und amorpher Kohle (spez. Gew. 2·0) kann man das Gemisch in Äthylenbromid (spez. Gew. 2·15) suspen-

[1]) *C. A. Jacobson* und *S. C. Dinsmore*, Verbesserter Heber. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **32**, p. 810 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 377 (1910). — Vgl.: Dieselben, Scheidevorrichtung. Amer. Chem. Journ. Vol. **44**, p. 84 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 401 (1910).

[2]) *R. Rose*, Automatischer Flüssigkeitsheber. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 768 (1910).

[3]) Siehe z. B.: *A. Kahlert & Co.*, Automatischer Abfüllheber. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 913 (1909). — Derselbe, D. R.-P. 250.881; Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 2189 (1912). — *E. Raymond*, Automatisch wirkender Heber. Bull. Soc. Chim. de Belg. T. **24**, p. 327 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 437 (1910). — *K. Matton*, Neue Sicherheitsheber. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **23**, S. 20 (1910). — *M. Freund*, Dekantiervorrichtung. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1308 (1911). — *H. Walton jun.*, Eine Methode, um Standflaschen zu füllen. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 1585 (1911), Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 134 (1912). — *H. Gödecker*, Gefüllt bleibender Heber. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 422 (1912).

dieren[1]): nach dem Schütteln und Zentrifugieren der Flüssigkeit befindet sich der amorphe Kohlenstoff getrennt vom graphitischen Kohlenstoff in der oberen Schicht und kann so isoliert und eventuell quantitativ bestimmt werden.

Als ein sehr geeignetes Mittel zur Trennung von Salzen, Kohlenhydraten und Eiweißkörpern im entfetteten Trockenrückstand von Blut, Milch, Harn, Galle od. dgl. hat sich Bromoform (spez. Gew. 2·9) oder Methylenjodid (spez. Gew. 3·3) erwiesen.[2]) Die meisten der den physiologischen Chemiker interessierenden Substanzen sind spezifisch leichter als Bromoform, Eisensalze und einige Kalziumsalze schwerer. Durch Verdünnen von Bromoform oder Methylenjodid mit Toluol oder Xylol kann man sich eine lückenlose, fein abgestufte Skala von Flüssigkeiten zwischen den spez. Gew. 3·3 (Methylenjodid) und 0·7 (Xylol) herstellen. Kleinere Änderungen im spezifischen Gewicht der Flüssigkeiten bewirkt man am zweckmäßigsten durch Änderungen der Temperatur. Nach dieser Schlämmmethode gelingen sogar quantitative Trennungen, z. B. von Chlorkalium und Chlornatrium. Die spezifische Gewichtsdifferenz zwischen 1·98 (für KCl) und 2·10 (für NaCl) genügt, um Spuren von Chlorkalium in einer Lösung vom spez. Gew. 2·04 quantitativ zur Abscheidung zu bringen.[2]) Bezüglich der Einzelheiten dieser Methode sei im übrigen auf die Originalabhandlung verwiesen.

Ein praktisches Verfahren, feinkörnige, in einer Flüssigkeit suspendierte Stoffe nach ihrer Korngröße oder ihrem spezifischen Gewicht zu sortieren, also zu schlämmen, besteht darin, daß man die Flüssigkeit kontinuierlich eine Anzahl einzelner Zylinder, deren Querschnitt nacheinander immer größer wird, von unten nach oben durchströmen läßt; da die Geschwindigkeit des Flüssigkeitsstromes mit wachsendem Durchmesser der Zylinder beständig stufenweise abnimmt, setzen sich die verschiedenen Fraktionen des Pulvers getrennt auf dem Boden der einzelnen Zylinder ab.[3]) Auf demselben Prinzip beruht der Schlämmapparat nach *Nöbel*[4]) (Fig. 287): die einzelnen Gefäße fassen 50, 400, 1350 und 3200 cm^3. Nach der „Schlämmformel", die der Wirksamkeit derartiger Apparate rechnerischen Ausdruck gibt, verhalten sich die Durchmesser kugelförmiger Schlämmkörper direkt wie die Quadrate der Stromgeschwindigkeiten, und umgekehrt wie die um 1 verminderten Gewichte.[5])

---

[1]) *J. E. Thomsen*, Nachweis von Graphit in Schmiermitteln. Entgegnung auf den Aufsatz von *J. Marcusson* und *G. Meyerheim*. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 3, p. 871 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 90 (1912).

[2]) *H. Friedenthal*, Über quantitative chemische Analyse von Gemengen mit Verwendung der Differenzen im spezifischen Gewicht. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 904 (1911).

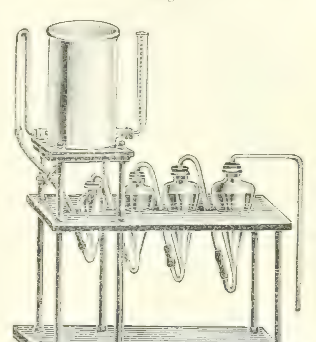
[3]) Soc. anonyme des Manufactures des Glaces et Produits Chim. de St. Gobain, Vorrichtungen zum Sortieren gepulverter Stoffe. Engl. Pat. 2830/11; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 369 (1912).

[4]) Siehe z. B.: *H. v. Fehling*, Neues Handwörterbuch der Chemie. Bd. **6**, S. 221, Fig. 28. Braunschweig (F. Vieweg & Sohn) 1898. — *E. Wolff*, Schlämmanalyse des Bodens. Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **3**, S. 89 (1864).

[5]) *Em. Schöne*, Über einen neuen Apparat für die Schlämmanalyse. Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **7**, S. 29 (1868).

Auf einem ganz ähnlichen physikalischen Prinzip wie das Schlämmen fußt die sogenannte Fallprobe, die zur Kontrolle der Kornfeinheit eines Pulvers dienen kann. Man suspendiert das zu prüfende Material in einer Flüssigkeit, die spezifisch leichter ist als das Pulver und es nicht löst (meistens Wasser), schüttelt kräftig durch, läßt in einem graduierten Glaszylinder absetzen und beobachtet an der Skala die Geschwindigkeit, mit der die Klärung von oben nach unten vorwärts schreitet: Je rascher unter sonst gleichen Bedingungen von zwei spezifisch gleich schweren, aber verschieden fein gemahlenen Pulvern sich das eine absetzt, um so gröber sind die Partikelchen, aus denen es besteht.

Fig. 287.



Schlämmapparat nach *Nöbel*.

Soll z. B. schwefelsaurer Baryt („Blanche fixe") auf Kornfeinheit geprüft werden, so verfährt man nach *Cobenzl* [1]) am besten folgendermaßen:

Man nimmt graduierte Mischzylinder mit Stopfen, und zwar am besten solche von 2000 cm^3 Inhalt. Von dem Teige werden 100 *g* trocken abgewogen, mit Wasser sorgfältig angerührt, ohne Verlust durch ein feines Sieb geschlagen, auf 2000 cm^3 im Zylinder aufgefüllt und noch ca. 30 Sekunden kräftig geschüttelt. Dann stellt man den Zylinder hin und notiert von 5 zu 5 Minuten die Anzahl der Kubikzentimeter, um welche sich die Substanz abgesetzt hat. Hat man vorher unter Innehaltung der gleichen Versuchsbedingungen die Fallgeschwindigkeit eines anerkannt guten Erzeugnisses festgestellt, so gewinnt man auf diese bequeme Weise einen sehr genauen Maßstab dafür, ob und in welchem Grade das zu prüfende Material fein- oder grobkörniger ist als das Vergleichsobjekt, dessen Korngröße eventuell mikroskopisch gemessen worden ist.

Für die Bestimmung der Korngröße von Kakaopulver hat sich nach *Boll* [2]) die folgende Versuchsanordnung am besten bewährt:

Man kocht je 5 *g* Kakaopulver in einem Erlenmeyerkölbchen mit je 100 cm^3 Wasser einmal auf, nachdem man zuvor durch Umschütteln dafür Sorge getragen hat, daß das Wasser den Kakao gut benetzt hat und die anfangs sich bildenden Klümpchen beseitigt sind. Während des Aufkochens stellt man den aus einer Reihe genau graduierter Rohre bestehenden Apparat in ein Wasserbad, erwärmt auf 80—82°, füllt den aufgekochten

[1]) *A. Cobenzl,* Einige Apparate und Arbeitsweisen für das photochemische Laboratorium und den photochemischen Betrieb. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 914 (1912).

[2]) *P. Boll,* Methode zur Bestimmung der Kornfeinheit von Kakao. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 914 (1912).

Kakao in die Zylinder und kühlt allmählich auf 75° ab. Dann nimmt man den Apparat aus dem Wasserbade heraus, verschließt die Zylinder mit Korkstopfen, schüttelt gut durch und liest nun bei Zimmertemperatur in Abständen von 15 Minuten das sich absetzende Volumen ab. Die Methode gibt genaue Ergebnisse, und die bei demselben Material erhaltenen Werte schwanken nur innerhalb sehr enger Grenzen.

3. Abheben (im Scheidetrichter). (S. 115—116.)

Ein einfacher Ersatz für Scheidetrichter[1]) besteht in einer Flasche mit doppelt durchbohrtem, luftdicht aufgesetzem Kork, der zwei Glasröhren trägt. Die längere ist im Stopfen leicht verschiebbar, außen umgebogen und beiderseits lang genug, um als Heber für die obere Flüssigkeit zu dienen. Die kürzere Glasröhre dient zum Anblasen, um die obere Flüssigkeit in das Heberrohr zu drücken, das man zuvor auf die Trennungsfläche der Schichten eingestellt hat.

Fig. 288.

Scheidetrichter nach *W. A. Kahlbaum*

Einen hahnlosen Scheidetrichter, der die mannigfachen Nachteile der gewöhnlichen eingeschliffenen Glashähne zu vermeiden sucht, stellt Fig. 288 dar. An Stelle des Hahns ist auf das Abflußrohr *C*, das bei c^2 zu einem massiven Stab ausgebildet ist, ein Gehäuse *D* aufgeschliffen. Der massive Teil des Abflußrohrs ist rechtwinklig von den Kanälen c^3 und c^4 durchzogen. Das aufgeschliffene Gehäuse *D* hat oben eine becherförmige Erweiterung *d* und in seinem konischen Teil eine Längsrinne d^1. Wenn diese Rinne mit den Kanälen c^3 und c^4 in Verbindung steht, so entleert sich der Trichter, andernfalls ist er geschlossen. Um das Abfallen des Gehäuses vom Abflußrohr zu verhüten, wird unterhalb des Gehäuses ein kurzes Stück Gummischlauch über den Trichterstiel gezogen. Der Becher *d* dient einesteils als Handhabe beim Drehen des Gehäuses, andernteils soll er ein Lösungsmittel aufnehmen für den Fall, daß sich der Schliff festgesetzt hat.[2])

Über die verschiedenen Scheidevorrichtungen im einzelnen siehe im übrigen den Abschnitt „Ausschütteln im Scheidetrichter“ (Bd. I, S. 175 ff.).



4. Zentrifugieren. (S. 116—121.)

Für die quantitative Bestimmung von Wasser und Schmand in Erdölen wurden Zentrifugen konstruiert[3]), die auch für sonstige Zwecke

[1]) *Kiliani*, Ersatz für Scheidetrichter. Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **51**, S. 102 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 85 (1912).

[2]) Siehe im übrigen: *Georg W. A. Kahlbaum,* Neuer Scheidetrichter. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **32**, S. 509 (1899).

[3]) *Rosenthal*, Über die Wasser- und Schmandbestimmung in Erdölen. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1259 (1909).

brauchbar sein werden. Die Schleudergefäße dieser Zentrifugen laufen in ein im Querschnitt flaches Skalenrohr aus, an dem man die Menge des aus dem Erdöl ausgeschleuderten Wassers ohne weiteres mit aller Schärfe quantitativ ablesen kann. Ein ganz ähnliches Zentrifugiergefäß, das sogar bis auf $\frac{1}{100}$ cm^3 kalibriert ist, schlug *Strzyzowski* vor.[1])

Die von *Richards*[2]) eingeführten Trichterzentrifugen (Bd. I, S. 117 und Fig. 242 und 243) werden sich namentlich auch zur Beschleunigung des Filtrierens leicht flüchtiger Lösungsmittel eignen, da es in diesem Fall oft untunlich ist, an der Saugpumpe zu filtrieren: erstens gerät das Lösungsmittel beim Absaugen in den entstehenden luftverdünnten Raum leicht ins Sieden und geht also teilweise verloren, und zweitens lagert sich hierbei der in der Flüssigkeit etwa enthaltene gelöste Stoff zum großen Teil unmittelbar an der Außenfläche des Filters ab und verstopft alsbald dessen Poren, so daß die Filtration zum Stillstand kommt. In derartigen Fällen kann die Trichterzentrifuge von großem Nutzen sein, sofern es sich nicht um kolloidale Lösungen (z. B. eine Lösung von Kautschuk in Benzol oder Chloroform) handelt: Diese lassen oft bei kräftigem Zentrifugieren das Kolloid selbst ausfallen.

Bewährt hat sich die Methode des Zentrifugierens ferner in der Mikrochemie bei der Behandlung von sehr kleinen Niederschlagsmengen[3]) und in der quantitativen Analyse.[4]) —

Auf die Abhängigkeit der elektromotorischen Kraft in Salzlösungen von der Zentrifugalwirkung sei hier nur hingewiesen.[5]) —

Ebenso wie Gasgemenge beim Zentrifugieren eine teilweise Entmischung erfahren[6]), ist zu erwarten, daß bei genügend kräftigem Zentri-

[1]) *C. Strzyzowski*, Über einen neuen Zentrifugier-Sediment-Präzisionsmesser. Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. Bd. **50**, S. 497 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 1249.

[2]) Vgl.: *Th. W. Richards*, Notiz über die Wirksamkeit zentrifugaler Reinigung. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **27**, p. 104 (1905); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 977. — Derselbe, Neuere Untersuchungen über die Atomgewichte. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **40**, S. 2771 (1907). — *B. C. P. Jansen*, Qualitative Zentrifugalanalyse. Chemisch Weekblad. Bd. **5**, S. 591 (1908); Chem. Zentralbl. 1908, II, S. 823.

[3]) Vgl.: *F. Emich*, Über die Fortschritte der Mikrochemie seit *H. Behrens*. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 663 (1911).

[4]) Vgl.: *H. G. Parker*, Die Zentrifuge in der quantitativen Analyse. Journ. Amer. Soc. Vol. **31**, p. 549 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 321 (1909).

[5]) Vgl.: *R. C. Tolman*, Die elektromotorische Kraft, welche in Lösungen durch Zentrifugalwirkung hervorgerufen wird. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 121 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, I, S. 1398.

[6]) *G. Bredig*, Über den Einfluß der Zentrifugalkraft auf chemische Systeme. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **17**, S. 459 (1895); Chem. Zentralbl. 1895, II, S. 558. *E. Mazza*, Zerlegung von atmosphärischer Luft in ihre Bestandteile. Österr. Pat.-Anm. 4977—11; Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 406 (1912). — *G. Bredig* und *F. Haber*, Prinzipien der Gasscheidung durch Zentrifugalkraft. Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. **17**, S. 452 (1904); Chem. Zentralbl. 1904, I, S. 1239. — Vgl. auch: *J. Walter*, Ist es möglich, Salzlösungen durch die Zentrifugalkraft zu konzentrieren oder Gasgemische durch dieselbe zu trennen? Chem.-Ztg. Bd. **23**, S. 62 (1899).

fugieren sogar gelöste Stoffe aus ihren Lösungen ausgeschleudert werden können. Aus einer starken Cäsiumchlorid-Lösung konnte man durch Zentrifugieren (3000 Touren in der Minute) allerdings nur Konzentrationsänderungen von einigen Hundertstel Prozent hervorrufen. [1] Natriumsulfat aus gesättigter Lösung durch eine Zentrifuge abzuscheiden gelang nicht. [2] Dagegen ist es möglich, mit einer Zentrifuge von 10.000 Umdrehungen pro Minute und einer Zentrifugalkraft von etwa 800 Millionen Dynen aus Kuhmilch das Kasein (nebst Lezithin und Eisen) in etwa 3 Stunden quantitativ auszuschleudern. [3] Das Milchplasma ist nach Entfernung des Kaseins noch opaleszent und enthält die übrigen Eiweißkörper der Milch. Es gelingt also auf diese Weise die quantitative Trennung zweier Eiweißkörper mit Hilfe der Zentrifugalkraft. Das Milchfett sondert sich bei derartig starkem Zentrifugieren in eine flüssige und eine feste Schicht. Durch Jodieren von Fetten und Zentrifugieren mit wässeriger Lösung gelingt es leicht, die Fette mit ungesättigten Bindungen von den übrigen zu trennen. Jodieren und Bromieren dürfte überhaupt ein sehr geeignetes Mittel sein, Differenzen des spezifischen Gewichtes stark zu erhöhen und damit die quantitative Scheidung nach dem spezifischen Gewicht zu erleichtern. Eine Reihe von Kolloiden lassen sich ebenfalls durch starkes Zentrifugieren quantitativ abscheiden (vgl. oben), ferner die Mikroorganismen aus Lösungen, so daß diese sterilisiert werden. Eine Zentrifuge für geplante 100.000 Umdrehungen pro Minute ist im Bau begriffen. [3] —

Auf eine neue Trennungsmethode: Körner nach ihrem spezifischen Gewicht zu sondern unter Ausnutzung ihrer relativen Bewegung auf glatter Unterlage sei hier nur hingewiesen. [4]

III. Trennen auf Grund verschiedenen Dampfdrucks. (Vgl. S. 121—175.)

Das Trennen und Reinigen durch fraktionierte Destillation hat auch vielfach mit Erfolg auf Gasgemische, die zunächst durch Abkühlung verflüssigt werden, Anwendung gefunden. [5] So wurde durch Rektifikation großer Mengen flüssiger Luft der Gehalt der Atmosphäre an Neon (15 Millionstel Volumteile) und an Helium (5 Millionstel Volumteile) bestimmt [6].

---

[1]) *Earl of Berkeley* und *C. V. Burton*, Beitrag zur osmotischen Theorie der Lösungen. Philos. Magazine. [6], Vol. **17**, p. 598 (1909); Chem. Zentralbl. 1909, I, S. 1844.

[2]) *H. Friedenthal*, Über quantitative chemische Analyse von Gemengen mit Verwendung der Differenzen im spezifischen Gewicht. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**, S. 905 (1911). — Vgl. auch: *M. A. Rakusin*, Bemerkung zur Abhandlung von *H. Friedenthal* . . . . Ebenda. S. 1676.

[3]) *H. Friedenthal*, l. c.

[4]) *J. K. van Gelder*, Verfahren und Vorrichtung zum Trennen verschieden schwerer Stoffe durch Schleudern. D. R.-P. 217.429; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 94.

[5]) Vgl. z. B.: *P. Lebeau*, Über die Wasserstoffsilizide. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **148**, p. 43 (1909); Chem. Zentralbl. 1909, I. S. 623.

[6]) *G. Claude*, Über die Zusammensetzung der atmosphärischen Luft. Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. **148**, p. 1454 (1909); Chem. Zentralbl. 1909, II, S. 257.

und für die Dichtebestimmung von Xenon und Krypton wurden die Verdampfungsrückstände von 120 Tonnen flüssiger Luft fraktioniert.[1] Ferner wird Sauerstoff und Stickstoff technisch aus flüssiger Luft durch fraktionierte Destillation im großen dargestellt[2] (vgl. auch Bd. I, S. 336, Fußnote 4 und S. 244, Fußnote 6).

Kühlt man ein Gasgemisch nicht so tief ab, daß sich alle seine Bestandteile verflüssigen, sondern daß noch ein oder mehrere Bestandteile gasförmig bleiben, so erübrigt sich oft eine fraktionierte Destillation. Man braucht das zu reinigende Gasgemisch nur durch eine entsprechend tief abgekühlte leere Waschflasche zu leiten, um eine Trennung der schwer verdichtbaren Gase von den leicht verdichtbaren zu erzielen. Auf diese bequeme Weise gelingt es z. B. leicht, Gase von beigemengtem Wasserdampf nahezu quantitativ zu befreien, d. h. sie zu trocknen (vgl. den V. Abschnitt dieses Kapitels). Es bleibt in dem Gase nur soviel Feuchtigkeit zurück, als der Tension des Wassers bzw. Eises bei der innegehaltenen tiefen Temperatur entspricht.[3] —

In vielen Fällen versagt die fraktionierte Destillation als Trennungsmethode, erstens dann, wenn die Siedepunkte der zu trennenden Flüssigkeiten oder festen Körper bei dem innegehaltenen Druck allzu dicht bei einander liegen, und zweitens, wenn die Tensionskurve des Gemisches einen Maximum- oder Minimumdampfdruck aufweist. So gelingt es z. B. auch mit den ausgezeichnetsten Fraktionierapparaten nicht (wenigstens nicht bei A t m o s p h ä r e n d r u c k; vgl. unten, S. 747), aus wässerigem Spiritus einen mehr als etwa 97%igen Alkohol herauszudestillieren, weil dieses Gemisch von Alkohol und Wasser ungetrennt niedriger siedet, als jede der Komponenten allein.[4] Ferner verhalten sich Gemische von o p t i s c h

---

[1]) *R. B. Moore,* Die Dichte von Krypton und Xenon. Journ. Chem. Soc. London. Vol. **93**, p. 2181 (1908); Chem. Zentralbl. 1909, I, S. 822.

[2]) Siehe z. B.: *F. Linde,* Über die Trennung von Gasgemischen mit Hilfe der Verflüssigung. Verh. d. Vereins z. Beförd. d. Gewerbefl. 1911; Chem.-Ztg. Bd. 35, Rep. S. 210.

[3]) Vgl. hierüber im übrigen z. B.: *F. W. Küster,* Lehrbuch der allgemeinen, physikalischen und theoretischen Chemie. Heidelberg (C. Winter) 1907, S. 348. *C. v. Linde,* Rückblicke und Vorblicke auf die Entwicklung der Kältetechnik. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1119 (1910). — *R. C. A. Banfield,* Anwendung künstlicher Kälte in Hüttenwerken. E b e n d a, S. 1120. — *W. Nernst,* Über einen Apparat zur Verflüssigung von Wasserstoff. Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. **17**, S. 737 (1911). — Siehe ferner: *A. Golodetz,* Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 273 (1912). — *W. Hempel,* Allgemeine Gesichtspunkte der chemischen Technik. E b e n d a, S. 631.

[4]) *J. A. Le Bel,* Über die Grenze der Trennung des Alkohols vom Wasser durch Destillation. Compt. rend. de l'Acad. des sciences de Paris. T. 88, p. 912 (1879); Chem. Zentralbl. 1879, S. 459. — M e t h y l a l k o h o l bildet dagegen k e i n e M i s c h u n g m i t e i n e m S i e d e p u n k t s m i n i m u m u n d k a n n d a h e r d u r c h D e s t i l l a t i o n l e i c h t w a s s e r f r e i e r h a l t e n w e r d e n. Vgl.: *S. Young* und *E. C. Fortey,* Über die Eigenschaften von Mischungen der niedrigeren Alkohole mit Wasser. Proceedings Chem. Soc. Vol. 18, p. 105 (1902); Chem. Zentralbl. 1902, I, S. 1317.

aktiven Spiegelbild-Isomeren, z. B. von d- und l-Kampfer, bei der Destillation wie eine einheitliche Substanz; eine Trennung der Komponenten ist auf diesem Wege nicht zu erreichen.[1])

Aus einem Flüssigkeitsgemenge, deren Bestandteile bei Atmosphärendruck (vgl. unten, S. 747) ein ungetrennt siedendes Gemisch mit einem Minimum- oder Maximumsiedepunkt bilden, kann dennoch nach einer neuen aussichtsreichen Methode[2]) die eine Komponente durch Destillation bei gewöhnlichem Druck isoliert werden[3]): man setzt dem Gemisch in geeigneter Menge noch eine passende dritte Substanz hinzu, die mit dem zu entfernenden Bestandteil ein neues tief siedendes Minimumgemisch bildet und destilliert nun dieses zunächst ab. Ein Gemisch von 297 *g* Toluol (Siedepunkt 110·4°) und 103 *g* Essigsäure (Siedepunkt 118°) bildet z. B. eine ungetrennt bei 104—109° siedende Flüssigkeit mit dem konstanten Gehalt von etwa 31% an Essigsäure. Nun existiert auch ein Minimumgemisch Benzol + Essigsäure, das 2% Essigsäure enthält und bereits bei 80·05° siedet. Setzt man also hiernach zu 100 *g* obigen Toluol-Essigsäure-Gemisches 1800 *g* Benzol hinzu, so siedet zunächst die gesamte Essigsäure zusammen mit dem Benzol bei ca. 80° ab, und zurückbleibt reines Toluol. Auf ähnliche Weise läßt sich in der Fabriks- und Laboratoriumspraxis wasserfreie Essigsäure durch Destillation der wasserhaltigen Säure mit Toluol oder ähnlichen Substanzen gewinnen[3]), ferner absoluter Alkohol aus Spiritus nach Zusatz von Benzol.[2]) Im übrigen sei auf die Originalabhandlungen verwiesen.

Bisher wurde fast stets in der Weise fraktioniert destilliert, daß das Gemisch bis zum Siedepunkt des einen Bestandteils erhitzt wurde. Von der Verdampfung unterhalb des Siedepunktes: der Verdunstung, wurde bisher kein Gebrauch zu Destillationszwecken gemacht. Es hat sich nun gezeigt, daß sich z. B. Wasserstoffsuperoxyd-Lösungen in beliebiger Konzentration und Reinheit gewinnen lassen, wenn man durch die verdünnte

[1]) *W. Ch. Evans*, Destillation von Gemischen enantiomorph verwandter Substanzen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1264 (1910).

[2]) *S. Young*, Die Darstellung von absolutem Alkohol aus starkem Spiritus. Proceedings Chem. Soc. Vol. 18, p. 104 (1902); Chem. Zentralbl. 1902, I, S. 1317. — *S. Young* und *E. C. Fortey*, Über die Eigenschaften von Mischungen der niedrigeren Alkohole mit Wasser. Proceedings Chem. Soc. Vol. **18**, p. 105 (1902); Chem. Zentralbl. 1902, I, S. 1317. — *S. Young* und *E. C. Fortey*, Über die Eigenschaften von Mischungen der niedrigeren Alkohole mit Benzol und mit Benzol und Wasser. Journ. Chem. Soc. London. Vol. 18, p. 105 (1902); Chem. Zentralbl. 1902, I, S. 1317. — Vgl. auch: *Iw. Kablukow*, *A. Solomonow* und *A. Galine*, Über Druck und Zusammensetzung der Dämpfe von Lösungen in wässerigem Äthylalkohol. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 46, S. 399 (1903).

[3]) *A. Golodetz*, Über neue Verfahren zur Trennung von nahe siedenden oder ungetrennt siedenden Flüssigkeitsgemischen. Chem.-Ztg. Bd. 36, S. 273, 297 u. 302 (1912). — Derselbe, Über fraktionierte Destillation mit Wasserdampf. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 78, S. 641 (1912); vgl.: *W. Herz*, Die Fortschritte der physikalischen Chemie im Jahre 1912. Chem.-Ztg. Bd. 36, S. 881 (1912). — *Tichvinsky*, Über fraktionierte Destillation mit Wasserdampf. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **80**, S. 632 (1912).

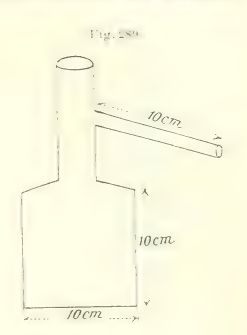
(etwa 3%ige) Lösung des Handels einen kräftigen Strom eines indifferenten Gases bei Temperaturen unterhalb 85° hindurchleitet.[1])

Diese Methode der „Verdunstungsdestillation" dürfte für die Laboratoriumspraxis vielleicht noch allgemeinere Bedeutung gewinnen.

1. Destillieren bei gewöhnlichem Druck. (S. 122—131.)

a) Destillationsgefäße. (S. 122—125.)

Bei der Destillation größerer Mengen von Flüssigkeiten, namentlich von feuergefährlichen, empfiehlt es sich, als Siedegefäße statt der üblichen gläsernen Rundkolben solche aus Metall zu verwenden. Speziell für die Destillation von Erdölen eignen sich z. B. kupferne, zylindrische flaschenförmige Rundkolben von etwa 500 *cm*³ Inhalt (Fig. 289). Diese Kolben können auch für Destillationen unter vermindertem Druck benutzt werden.[2]) Auch Destilliergefäße aus Aluminium haben sich in der Praxis gut bewährt.[3])



Kupferner Destillationskolben nach *Charitschkoff*.

Um das Überspritzen siedender Flüssigkeiten in das Destillationsrohr zu verhüten, wurde vorgeschlagen, durch das Mittelrohr eines Claisenkolbens (vgl. Bd. I, S. 123, Fig. 251) ein Glasrohr zu führen, das bis zum Halsansatz des Kolbens hinunterreicht und hier tellerförmig gestaltet ist. Dieser Teller versperrt dann den Kolbenhals so weit, daß ein Überspritzen von Flüssigkeitsteilchen bis in das Ablaufrohr ausgeschlossen ist[4]) (Fig. 290).

Zum Abdestillieren sehr geringer Flüssigkeitsmengen benutzt man mit Vorteil die umstehend abgebildeten Mikro-Destillationskolben[5]) (Fig. 291). Das Kondensat sammelt sich in der Rinne *b* und fließt bei *c* in vorgelegte Mikropyknometer oder dgl. ab. Die Form des Kolbenraums *f* schützt gegen Überkochen des Destillationsgutes.

Um einen Rückflußkühler auf bequeme Weise in einen Abflußkühler verwandeln zu können, wurde die umstehend abgebildete Kolbenform vorgeschlagen[6]) (Fig. 292). Das gebogene Destillationsrohr ist dicht am Kolbenhals mit einem Schliff versehen und darin drehbar angeordnet.

[1]) Chem. Fabrik Flörsheim Dr. *H. Nördlinger*, Herstellung von reinem Wasserstoffsuperoxyd oder dessen Lösungen durch Destillation. D. R.-P. 219.154; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 179 (1910).

[2]) *Charitschkoff*, Technische Destillationsprobe der Erdöle. Chem.-Ztg. Bd. **35**. S. 1027 (1911).

[3]) *H. Lange*, Aluminium-Destillierapparate. Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. **35**. S. 504 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II. S. 1418.

[4]) *A. Dahle*, Ein neuer Destillierkolben. Chem.-Ztg. Bd. **35**. S. 1027 (1911).

[5]) *A. Gawalowski*, Mikrodestillationsapparate. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **49**, S. 744 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 609 (1910).

[6]) *F. Gabriel*, Universal-Kolben. Chem.-Ztg. Bd. **36**. S. 44 (1912).

Neukonstruktionen von Kjeldahlaufsätzen wurden in großer Zahl vorgeschlagen.[1]) Durch sicheres Funktionieren dürfte sich die beistehend abgebildete Form auszeichnen[2]) (Fig. 293).

Um bei der Stickstoffbestimmung nach



Fig. 290.

Destillierkolben nach *Dahle*.

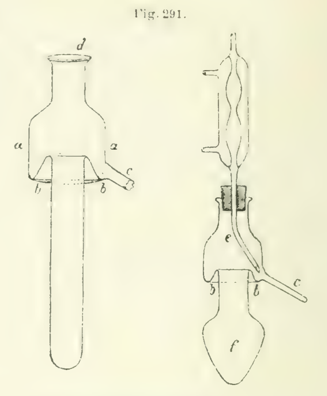


Fig. 291.

Mikro-Destillationsapparate nach *Gawalowski*.

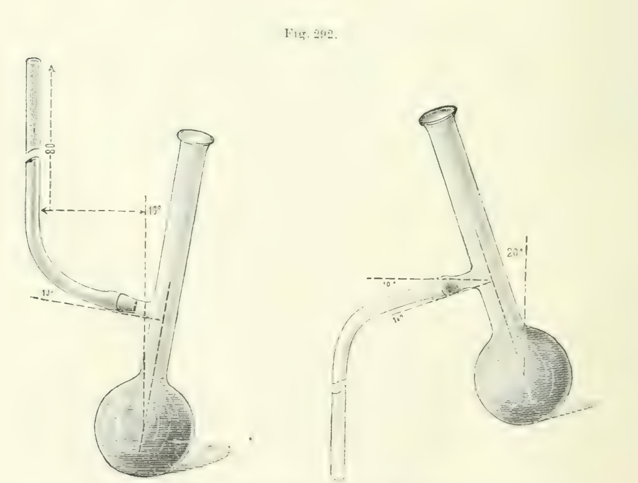


Fig. 292.

Universal-Destillationskolben nach *F. Gabriel*.

[1]) Vgl. z. B.: *C. A. Jennings*, Neuer Kjeldahlaufsatz. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **1**, p. 737 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 573 (1909). — *G. W. Gray*, Modifizierter Kjeldahlaufsatz. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **1**, p. 813 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 49 (1909).

[2]) *Fr. Dudy*, Ein Destillationskolbenaufsatz für Stickstoffbestimmungen nach *Kjeldahl, Böttcher, Devarda* u. a. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 1158 (1909).

Kjeldahl den Stopfen des Destillationsgefäßes zwecks Zugabe der Natronlauge nicht lüften zu müssen, was sicher einen Verlust an Ammoniak und damit einen Fehler in der Analyse bedeutet, wurde ein Destillationsaufsatz konstruiert, in den ein Tropftrichter eingeschmolzen ist [1]) (Fig. 294).

Die Apparatur der altbekannten „Destillatio per descensum" [2]) besteht darin, daß das Abflußrohr des Destillationsraumes diesen nicht seitlich, sondern zentrisch, und zwar an der untersten Stelle verläßt: das

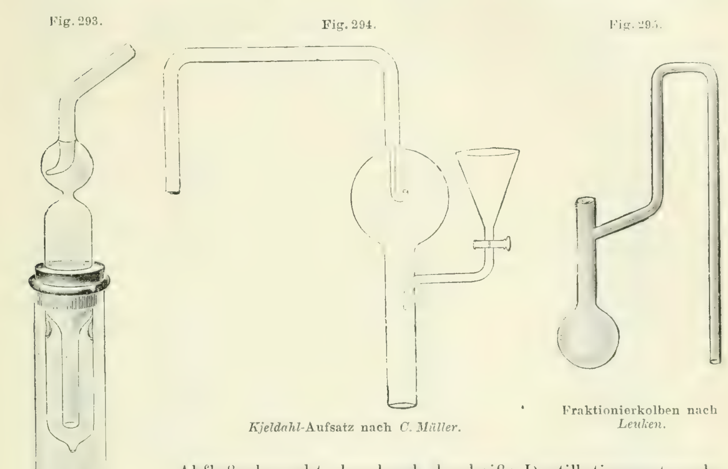


Fig. 293. *Kjeldahl*-Aufsatz nach *Dudy*.

Fig. 294. *Kjeldahl*-Aufsatz nach *C. Müller*.

Fig. 295. Fraktionierkolben nach *Leuken*.

Abflußrohr geht also durch das heiße Destillationsgut senkrecht hindurch, so daß es unmittelbar bis zum Austritt aus dem Destillationsgefäß heiß bleibt; ein Verstopfen durch leicht erstarrende Massen ist daher unmöglich. Außerdem wird die rasche Ableitung schwerer Dämpfe durch die senkrechte Lage des Rohres begünstigt. Es dürfte gelegentlich von Nutzen sein, sich dieser Destillationsweise zu erinnern und sie durch geeignete Zusammenstellung von Laboratoriumsgeräten nachzuahmen (vgl. z. B. unten S. 768).

b) Fraktionieraufsätze. (S. 125—126.)

Um einen Destillationskolben auf einfache Weise mit einem luftgekühlten Fraktionieraufsatz zu versehen, kann man das Abflußrohr des

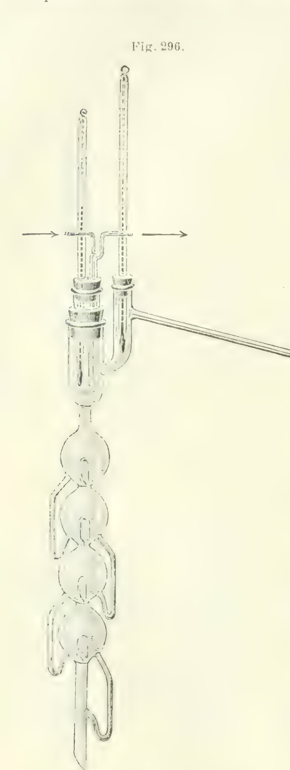
[1]) *C. Müller,* Destillationsaufsatz für Ammoniak- und Stickstoffbestimmungen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1308 (1910). — Vgl. auch: *C. Bloch* (dem die Priorität der Erfindung zukommt), Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 208 (1911).

[2]) Vgl.: *E. Gildemeister* und *Fr. Hoffmann,* Die ätherischen Öle. Berlin (Jul. Springer) 1899, S. 109. — *F. Henrich,* Über alte chemische Geräte, Öfen und Arbeitsmethoden. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 199 (1911).

Kolbens zunächst schräg und dann senkrecht nach oben biegen, bevor es abwärts zum Kühler führt [1]) (Fig. 295).

Der beistehend abgebildete Fraktionieraufsatz (Fig. 296) schließt sich dem in der Technik allgemein üblichen Fraktionierverfahren mittelst „Kapselkolonnen" an. [2]) Der oben befindliche Dephlegmator wird mit Paraffinöl gefüllt und seine Temperatur mit Hilfe eines kleinen wasserdurchflossenen Kühlers dauernd 10° unter der Temperatur der abdestillierenden Flüssigkeit gehalten. Das vom Dephlegmator abfließende Kondensat sammelt sich in den einzelnen Kugeln, wo es die von unten kommenden Dämpfe in gleichmäßigen Blasen durchstreichen. Der Apparat ist durch Umhüllung mit Asbest gegen äußere Abkühlung zu schützen. Bei mittleren Temperaturen (100—200°) läßt sich der Apparat auch ohne Dephlegmator (und dann ohne Asbestumhüllung) mit sehr gutem Erfolg verwenden. Ganz besonders hat sich der Apparat bei sehr niedrig siedenden Substanzen, wie z. B. Chloräthyl, bewährt; hierbei ist der Dephlegmator nicht durch Vermittlung von Paraffinöl, sondern direkt mit fließendem Wasser zu kühlen. Der Apparat wird in 2 Größen geliefert: mit 4 Kugeln zur Verarbeitung von Mengen bis zu 500 *g* und für größere Mengen mit 5 Kugeln. [3])

Fig. 296.



Fraktionieraufsatz nach *Baum*.

Sehr wirksam sind auch die von *Golodetz* [4]) vorgeschlagenen Fraktionieraufsätze. Nachdem der Dampf des Gemisches den Pro-

[1]) *C. Leuken*, Ein neuer Fraktionskolben. Apoth.-Ztg. Bd. **27**, S. 272 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 265 (1912).

[2]) *E. Baum*, Destillationsrohr zur fraktionierten Destillation. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 497 (1911).

[3]) *E. Baum*, Destillationsrohr zur fraktionierten Destillation. Ebenda, S. 533.

[4]) *A. Golodetz*, Über fraktionierte Destillation im Laboratorium und über neue Rektifizierapparate. Chem. Ind. Bd. **35**, S. 102 u. S. 141 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Repertorium S. 353 (1912). — Derselbe, Birektifikatoren, neue Rektifizierapparate. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1051. — Derselbe, Über fraktionierte Destillation im Laboratorium und über neue Rektifizierapparate. Die Chem. Industrie. Bd. **35**, S. 102 und 141 (1912); Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 2317 (1912). — Vgl. auch: Derselbe, Über neue Verfahren zur Trennung von nahesiedenden oder ungetrennt siedenden Flüssigkeitsgemischen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 273, 297 und 302 (1912).

zeß der Dephlegmation und Rektifikation durchgemacht hat, gelangt er nicht gleich in den Kühler und zur Vorlage, sondern wird zuvor noch in ein zweites Rektifizierrohr geleitet, das sich im Innern des ersten befindet und von dessen Dampf erwärmt wird. Hier tritt eine nochmalige Rektifikation ein: Der dampfförmig bleibende Teil destilliert jetzt in die Vorlage, der weniger flüchtige Rest wird kondensiert und tritt in das Siedegefäß zurück. Die Innenrohre der Apparate werden in Kugelform (Fig. 297) für kleinere Flüssigkeitsmengen und mit Glasperlenfüllung (Fig. 298) für größere Mengen hergestellt. In den Kugelapparaten gelangt der Dampf aus dem Kolben zuerst in den bald verengten, bald erweiterten Raum

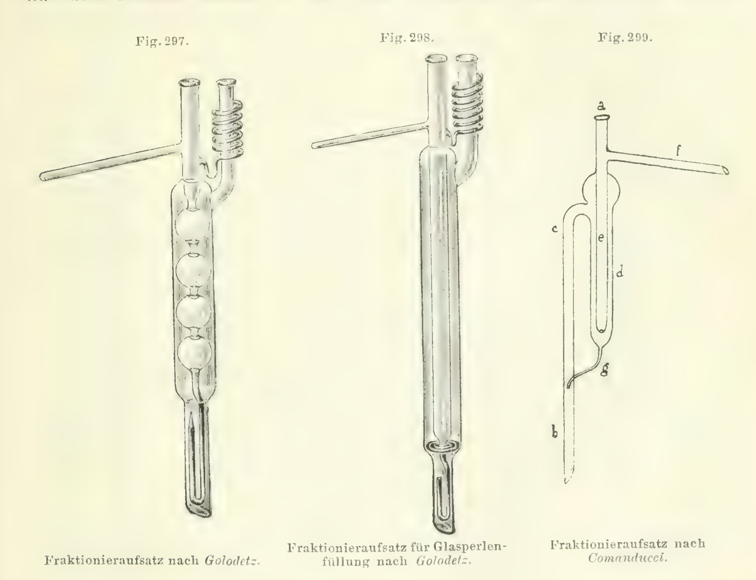


Fig. 297. Fraktionieraufsatz nach *Golodetz.*

Fig. 298. Fraktionieraufsatz für Glasperlenfüllung nach *Golodetz.*

Fig. 299. Fraktionieraufsatz nach *Comanducci.*

zwischen dem Außenmantel und den Kugeln und erleidet dabei die erste Rektifikation; dann geht er durch das oben angebrachte Seitenrohr in den Schlangenkühler, wird hier durch Luftkühlung teilweise kondensiert und tritt in das innere Kugelrohr ein. Hier rieselt das Kondensat von oben nach unten herab und wird durch die im Mantelrohr aufsteigenden heißeren Dämpfe wiederum zum Teil verdampft.

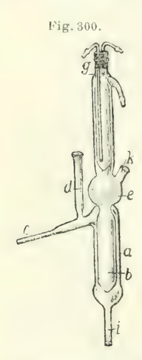
Auf einem ähnlichen Prinzip beruht der in Fig. 299 abgebildete Fraktionieraufsatz.[1])

[1]) *E. Comanducci,* Ein neuer Rektifikationsapparat. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 706 (1911).

Die Fraktioniervorrichtung von *Hahn*[1]) (Fig. 300) benutzt zur Erzeugung konstanter Temperaturen im Innern des Dephlegmators siedende Flüssigkeiten.

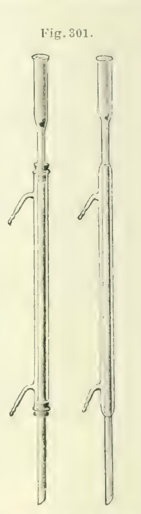
Bei einem bestimmten Druck verleiht eine solche Flüssigkeit dem von ihr erfüllten Raume eine stets gleichbleibende Temperatur und absorbiert dabei gleichzeitig im hohen Grade Wärme. Besonders beim Wasser mit seiner großen Verdampfungswärme ist die Wärmeaufnahme während des Siedens sehr intensiv. Der Apparat ist folgendermaßen gebaut. In den äußeren Zylinder *a*, dessen verjüngtes Ende *i* in den Kolben mit dem zu trennenden Gemische eingeführt wird, ist das zylindrische Gefäß *b* derart eingeschmolzen, daß seine Mantelfläche einen möglichst geringen Abstand (1—1·5 *mm*) von *a* hat. Der Raum zwischen *a* und *b* ist durch das Destillierrohr *c* mit der Vorlage verbunden; der Stutzen *d* dient zur Aufnahme eines Thermometers. Die Kühlsiedeflüssigkeit wird vom Gefäß *b* aufgenommen, das sich zu der Kugel *e* erweitert, um den Dämpfen den nötigen Siederaum zu verschaffen. Die aufsteigenden Dämpfe der Kühlsiedeflüssigkeit werden durch den Einhängekühler *g* kondensiert. Der Ansatz *k* mündet in die freie Atmosphäre oder wird zur Regulierung der Siedetemperatur der Kühlflüssigkeit mit einer Pumpe verbunden. Der Kochpunkt der Kühlflüssigkeit, die man am besten schon vorgewärmt einfüllt, muß etwa 2—3° unter dem des niedriger siedenden Bestandteils der zu fraktionierenden Mischung liegen. Das Gefäß *a* schützt man vor Abkühlung von außen durch Umhüllen mit einer Lage Asbestpapier.

Fig. 300.



Fraktionieraufsatz nach *Hahn*.

Fig. 301.



Engmantelige *Liebig*-Kühler nach *Stritar*.

Durch eine besonders große dephlegmierende Fläche zeichnet sich der Dephlegmator von *Krech*[2]) aus.

c) Kühler. (S. 126—130.)

Die üblichen sogenannten *Liebig*schen Kühler werden von alters her mit ganz überflüssig weiten Mänteln hergestellt und sind daher in gefülltem Zustande schwer, unhandlich und zerbrechlich. Es ist weit vorteilhafter, ganz enge Mäntel (von ca. 1·5 *cm* Durchmesser) zu verwenden, die bis zum Innenrohr nur wenige Millimeter Spielraum lassen. Außer der viel

[1]) *A. Hahn*, Ein neuer Fraktionieraufsatz. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 419 (1910).

[2]) Siehe im übrigen: *R. Krech*, Dephlegmator. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1152 (1912).

größeren Handlichkeit und Bruchfestigkeit haben diese engen Kühler noch den weiteren Vorzug, daß die beschleunigte Zirkulation des Wassers eine energischere Kühlung bewirkt[1]) (Fig. 301).

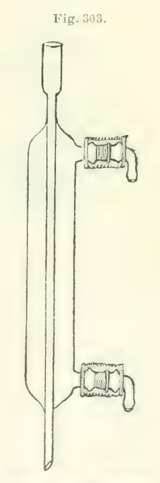
Das sogenannte Schwitzen der Rückflußkühler vermag manchen Schaden anzurichten: Tropft z. B. das kondensierte Wasser bei Verwendung von Rückflußkühlern über einem hocherhitzten Ölbade in dieses hinein, so verwandelt sich das Wasser plötzlich in Dampf und schleudert das heiße Öl explosionsartig heraus. Auch kann das vom Kühler abtropfende kalte Wasser einen heißen Kolben oder ein anderes Siedegefäß zum Springen veranlassen. Diesem Übelstand hilft eine mit Abflußrohr versehene Glasmanschette ab, die man unten auf dem Innenrohr des Kühlers mit Hilfe eines Stück Gummischlauches befestigt[2]) (Fig. 302). Die Vorrichtung ist schon früher von vielen anderen Seiten vorgeschlagen worden.[3])

Fig. 302.

Vorrichtung zum Auffangen des Kondenswassers an Rückflußkühlern nach *Dede*.

Um das Einknicken der Schläuche an Kühlern zu verhüten, dient die nebenstehend abgebildete Einrichtung (Fig. 303). In den gewöhnlichen geraden Schlauchansatz ist durch einen Schliff ein gebogenes Rohr mit Schlauchtülle um seine Achse drehbar eingepaßt. Durch zusammenpressende Spiralfedern wird ein Lockerwerden der Schlauchtülle verhindert.[4])

Fig. 303.



Kühler mit drehbaren Schlauchansätzen nach *Hodes & Göbel*.

Bei Destillationen kleiner Flüssigkeitsmengen empfiehlt es sich, das Abflußrohr des Fraktionierkölbchens selbst mit Wasser zu kühlen, indem man den äußeren Kühlmantel eines gewöhnlichen *Liebig*schen Kühlers darüber zieht. Man braucht dann keinen besonderen Kühler anzuschließen. Die Verluste infolge Hängenbleibens von Destillat in den Kühlrohren werden auf diese Weise erheblich verringert. — Für viele Zwecke ist es nicht nötig, mit fließendem Wasser zu kühlen. Es genügt, den in Fig. 304

[1]) *M. J. Stritar*, Neue Laboratoriumsapparate. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 265 (1909).

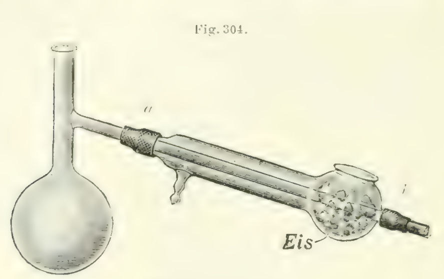
[2]) *L. Dede*, Vorrichtung zum Auffangen des Kondenswassers am Rückflußkühler. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 723 (1911).

[3]) Vgl.: *P. Altmann*, Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 779 (1911). — *A. Partheil* und *J. A. Rose*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **34**, S. 3611 (1902). — *Fr. Wiedmann*, Schutztrichter zum *Liebig*schen Kühler. Chem.-Ztg. Bd. **27**, S. 1206 (1903).

[4]) *Hodes & Göbel*, Drehbarer Schlauchansatz für *Liebig*sche und sonstige Kühler. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 165 (1911).

abgebildeten Kühler anzuwenden, der alle Schlauchverbindungen erspart und eventuell auch mit Eis oder Kältemischung gefüllt werden kann.[1]) Die beiden Ansätze *a* und *b* werden mittelst Stopfen oder Kautschukschlauch über das Destillationsrohr des Kolbens geschoben. Der Kühler ist unten kugelförmig erweitert, um die Einfüllöffnung möglichst groß zu gestalten. Durch einen (auf der Figur fortgelassenen) Ansatz, der durch ein Stück Gummischlauch mit Klemmschraube verschließbar ist, kann das Kühlwasser von Zeit zu Zeit abgelassen werden, um es zu erneuern. In den meisten Fällen genügt eine einmalige Füllung zur Kühlung bei $^1/_2$—1stündigen Destillationen langsam übergehender Stoffe; bei kräftig siedenden Flüssigkeiten ist sie je nach deren Siedepunkte etwa $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde wirksam.

Fig. 304.



Kühler nach *Hahn.*

Fig. 305.

Kühler nach *Kob.*

In ähnlicher Weise kann man sich einen Rückfluß-kühler ersparen, wenn man über das Steigrohr des Siedekolbens eine unten mit Stopfen verschlossene Manschette (aus Glas od. dgl.) schiebt und in diese das Kühlmittel einfüllt.[2])

Um die Kühlwirkung der *Allihn*schen Kugelkühler[3]) (vgl. Bd. I, S. 128 und Fig. 266, S. 126) zu verstärken, wurden den kugelartigen Erweiterungen des Innenrohrs dieser Kühler die Gestalt von breiten Schiffchen gegeben[4]) (Fig. 305). Der Dampf stößt kräftig auf die gekühlten, stark konkavkonvexen Wände und wird hierdurch schneller als in Kugeln, die er zum Teil gradlinig durchströmt, verdichtet.

Ebenfalls eine besonders intensive Kühlwirkung entfaltet der von *Woytaček*[5]) vorgeschlagene Kühler, dessen inneres, sich in zwei parallel ver-

[1]) *A. Hahn,* Ein bequemer Kühler. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 809 (1910).

[2]) Vgl. z. B.: *L. Wolter,* Über einige Reaktionen und Verbindungen des Zinntetrafluorids. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 165 (1912).

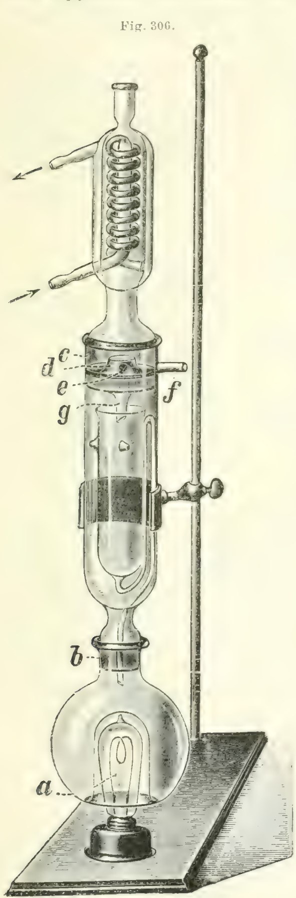
[3]) *F. Allihn,* Rückflußkühler für analytische Extraktionsapparate. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **25**, S. 36 (1886).

[4]) *E. Kob,* Neue Kühler. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 116 (1910).

[5]) *C. Woytaček,* Ein neuer Kühler. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1203 und 1280 (1912).

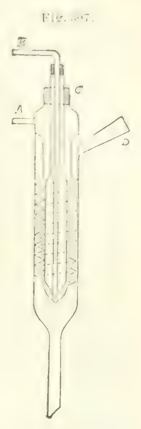
laufende Äste gabelndes Rohr im Querschnitt flach oval ausgebildet ist: die Breite jeder der beiden Kühlröhren beträgt 30 *mm*. Die gute Wirkung des Apparates beruht auf der weit größeren Kühlfläche, die ovale Röhren im Vergleich zu gleich großen kreisrunden Röhren den sie durchstreichenden Dämpfen darbieten. — Dasselbe Prinzip wurde schon früher von *Friedrichs* [1]) für Laboratoriumskühler verwertet.

Fig. 306.



Rapidkühler nach *v. d. Heide*.

Fig. 307.



Schraubenkühler nach *Greiner & Friedrichs*.

Eine äußerst energische Kühlwirkung bei verhältnismäßig sehr geringer Größe (12 *cm* Länge) entfaltet auch der nebenstehend in Verbindung mit einem Soxhletapparat abgebildete Kühler [2]) (Fig. 306). Während in den meisten der im Laboratorium üblichen Rückflußkühler das Gegenstromprinzip nicht befolgt wird, ist dies hier der Fall, da das Wasser in dem Schlangenrohr, wie ersichtlich, mit Gegenstromwirkung fließt. Ein weiterer Vorzug des Kühlers speziell für Extraktionsapparate besteht darin, daß der Eintritt in den Kühlraum sehr weit gewählt ist. Hierdurch werden Stauungen zwischen herabfließendem Kondensat und aufsteigenden Dämpfen verhindert.

Ebenfalls das Gegenstromprinzip wird in dem „Schraubenkühler“ (Fig. 307) angewandt. [3]) Das Kühlwasser tritt bei *A* ein, wird durch den Mantel des Abflußrohres gezwungen, den Schraubengängen spiralig zu folgen und fließt warm vom Boden der

[1]) Vgl.: *Greiner & Friedrichs*, Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1280 (1912).

[2]) *R. v. d. Heide*, Rapidkühler. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 716 (1910). — Vgl. auch: Derselbe, Verbesserter Rapidkühler und Extraktionsapparat. Ebenda. Bd. **35**, S. 531 (1911).

[3]) *Greiner & Friedrichs*, G. m. b. H., Gegenstrom-Rückflußkühler. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1255 (1911). — Vgl. auch: *F. Friedrichs*, Ein modifizierter Soxhlet-Extraktionsapparat mit Destillationsvorrichtung. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **25**, S. 2208 (1912).

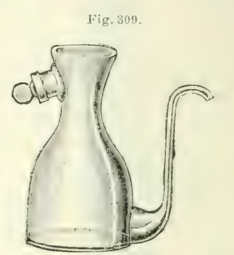
Kühlschraube durch *B* ab. Um den Apparat in Betrieb zu setzen, schaltet man das Kühlwasser ein und läßt zunächst durch Lüften des Stopfens *C* die Luft entweichen. Der Tubus *D* ist so angebracht, daß der Kühler auch zum Abdestillieren benutzt werden kann. In diesem Fall ist das Kühlwasser natürlich bei *B* hineinzuschicken und bei *A* abzuleiten.

Nachdem es der Firma *Heraeus* in Hanau gelungen ist, Aluminiumröhren nahtlos zu ziehen, sind solche Röhren zur Herstellung von Kühlschlangen (vgl. z. B. Bd. I, S. 129, Fig. 274) sehr geeignet.[1]) Da das Aluminium die Wärme besser überträgt als Glas, entfalten sechs Windungen einer Aluminiumschlange eine reichlich ebenso starke Kühlwirkung als die zehn Windungen, welche die Glasschlangen zu haben pflegen. Außerdem fällt auch die Unzerbrechlichkeit und das geringere Gewicht derartiger Kühlrohre als Vorteil in die Wagschale.

Fig. 308.

Kühler zum Umlegen nach *Hahn*.

Fig. 309.



Florentiner Flasche.

Einen einfachen Ersatz für Rückflußkühler kann man sich rasch mit Hilfe eines Trichters, in den man ein mit kaltem Wasser gefülltes Rundkölbchen legt, gelegentlich improvisieren.[2])

Will man an eine Reaktion, bei der am Rückflußkühler gekocht wurde, eine Destillation anschließen, so verwendet man mit Vorteil entweder den oben beschriebenen Kolben mit drehbar angeordnetem Destillationsrohr (S. 737, Fig. 292 auf S. 738), oder man benutzt den nebenstehend abgebildeten Kühler[3]) (Fig. 308). Die Arbeitsweise mit diesem geht ohne weiteres aus der Zeichnung hervor (vgl. auch Bd. I, S. 130, Fig. 279).

Im übrigen sei bezüglich neuer Kühlerkonstruktionen auf die Literatur[4]) verwiesen.

d) Vorlagen. (S. 131.)

Gehen bei einer Destillation zwei Flüssigkeiten über, die sich nicht miteinander mischen und verschiedene spezifische Gewichte haben, so verwendet man als Vorlagen von alters her die sogenannten Florentiner

[1]) Vgl.: *H. Mastbaum*, Aluminiumgeräte in der Laboratoriumspraxis. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 1319 (1910).

[2]) Siehe z. B.: *F. Vollrath*, Eine einfache Destillationsvorrichtung. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 1068 (1910).

[3]) *A. Hahn*, Einfache Verbesserungen an Laboratoriumsgeräten. Chem.-Ztg. Bd. 33, S. 472 (1909).

[4]) Vgl. u. a.: *G. Glaser*, Laboratoriumskühler. Österr. Pat.-Anm. Chem.-Ztg. Bd. 36, Rep. S. 85 (1912).

Flaschen[1]) (Fig. 309), die z. B. bei der Gewinnung ätherischer Öle[2]) durch Wasserdampfdestillation eine wichtige Rolle spielen (vgl. Bd. II, S. 989 und 991). Diese Vorlagen bewirken automatisch eine Scheidung der beiden verschieden schweren Anteile des übergegangenen Destillats.

Den gleichen Zweck verfolgt die nebenstehend skizzierte Apparatur (Fig. 310). Diese gestattet z. B. bei der Darstellung von Nitromethan ein ständiges, rasches und bequemes Trennen des überdestillierenden Nitromethans vom Wasser, während das mitübergehende Wasser gleichzeitig durch das Abflußrohr in eine zweite Vorlage tropft.[3])

Eine kugelförmige, mit Ablaßhahn versehene und durch fließendes Wasser bequem kühlbare Vorlage zeigt Fig. 311.[4]) Auch zylinderförmige Vorlagen sind angegeben worden, die, mit Ablaßhahn versehen und gleichzeitig graduiert, eine bequeme Volumbestimmung des über-

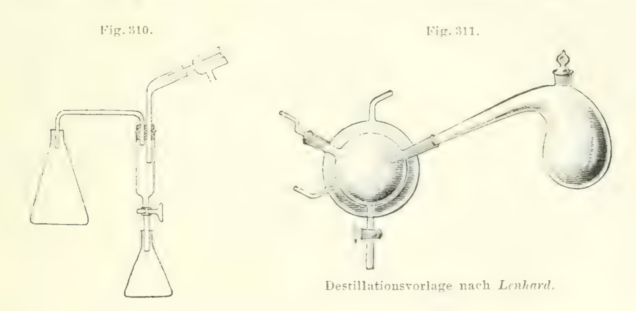


Fig. 310. Destillationsvorlage nach *Steinkopf* und *Kirchhoff*.

Fig. 311. Destillationsvorlage nach *Lenhard*.

gegangenen Destillats gestatten.[5]) Von anderer Seite war vorgeschlagen worden, das als Vorlage dienende Gefäß auf eine besonders konstruierte Hebelwage nach Art der Briefwagen, mit der man etwa 0·2 *g* ablesen kann, zu stellen, um jederzeit über die Gewichtsmengen der überdestillierten Flüssigkeit orientiert zu sein.[6])

2. Destillieren bei vermindertem Druck. (S. 131—155.)

Manche Flüssigkeitsgemische, die sich bei gewöhnlichem Druck durch fraktionierte Destillation nicht trennen lassen, weil sie ein ungetrennt

[1]) Siehe z. B.: *J. J. Berzelius*, Lehrbuch der Chemie. 4. Aufl. 1841, übersetzt von *F. Woehler*, Bd. **10**, S. 527 (1841).

[2]) Siehe: *E. Gildemeister* und *Fr. Hoffmann*, Die ätherischen Öle. Berlin (Jul. Springer) 1899, S. 122 ff.

[3]) *W. Steinkopf* und *G. Kirchhoff*, Zur Nitromethan-Darstellung. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **42**, S. 3439 (1909).

[4]) *W. Lenhard*, Neue Destillationsvorlage. Ztschr. f. ang. Chem. Bd. **23**, S. 1560 (1910).

[5]) Vgl. z. B.: *M. Kaehler & Martini*, Über einige neue Laboratoriumsapparate. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **12**, S. 372 und 801 (1899).

[6]) *A. Tigerstedt*, Eine Vereinfachung bei der fraktionierten Destillation. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **26**, S. 172 (1893).

siedendes Gemenge mit Siedepunkt-Minimum bilden (vgl. oben, S. 735), können durch Destillation unter vermindertem Druck in ihre Bestandteile zerlegt werden. So nimmt z. B. bei der Destillation von wässerigem Alkohol im binären Gemisch mit dem niedrigsten Siedepunkt das Verhältnis von Wasser zu Alkohol mit Druckerniedrigung ab. Bei Drucken unterhalb 80 *mm* Quecksilbersäule bilden Äthylalkohol und Wasser kein binäres Gemisch mehr, sondern der wasserfreie Alkohol stellt die flüchtigste Phase im gewöhnlichen Spiritus dar und läßt sich daher durch systematische Fraktionierung vom Wasser nach Belieben trennen.[1])

Zu ähnlichem Ergebnis führten die exakten Untersuchungen *Wreskys*.[2]) Dieser Forscher fand im Falle des binären Gemisches Äthylalkohol-Wasser, daß der relative Gehalt an Äthylalkohol im Dampf des konstant siedenden Gemisches um so größer ist, je niedriger man die Verdampfungstemperatur wählt, d. h. je geringer der Druck bei der Siededestillation ist. Der Alkoholgehalt des konstant siedenden Gemisches Äthylalkohol-Wasser betrug bei ca. 75° 95·7, bei 40° 97·6 Gewichtsprozent; der Temperatur 75° entspricht eine Dampfspannung von ca. 654 *mm*, der Temperatur 40° eine solche von ca. 131 *mm* Quecksilbersäule.

Im Falle des binären Gemisches Propylalkohol-Wasser liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt: Je niedriger die Temperatur, um so kleiner der relative Gehalt an Prophylalkohol im Dampf des konstant siedenden Gemisches. Destilliert man also dieses Gemisch unter vermindertem Druck, so erhält man nicht im Destillat, sondern im Rückstand fast reinen Alkohol.[3])

a) Die Methoden der Vakuumerzeugung. (S. 133—147.)

Die Wasserstrahlpumpe und ihre Nebenapparate. (S. 134—137.)

Eine Wasserstrahlpumpe mit zwei ineinander eingeschmolzenen Injektoren stellt Fig. 312 dar. Infolge der doppelten Saugwirkung soll die Pumpe rascher evakuieren, als die bisher üblichen Konstruktionen.[4])

Unter den zahlreichen Arten von Rückschlagventilen sind die wenig zu empfehlen, bei denen der Verschluß aus zwei ineinander geschliffenen Glasteilen oder ganz aus Gummi besteht. Beide Konstruktionen schließen nicht immer zuverlässig ab: erstere infolge Einlagerung von Substanzteilchen zwischen die Schliffflächen, letztere durch Erschlaffen oder Verkleben des Gummis. Zuverlässiger sind die Rückschlagventile, bei denen

[1]) *J. Wade* und *R. W. Merriman*, Der Einfluß von Wasser auf den Siedepunkt des Äthylalkohols bei Drucken oberhalb und unterhalb des Atmosphärendrucks. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 464 (1911).

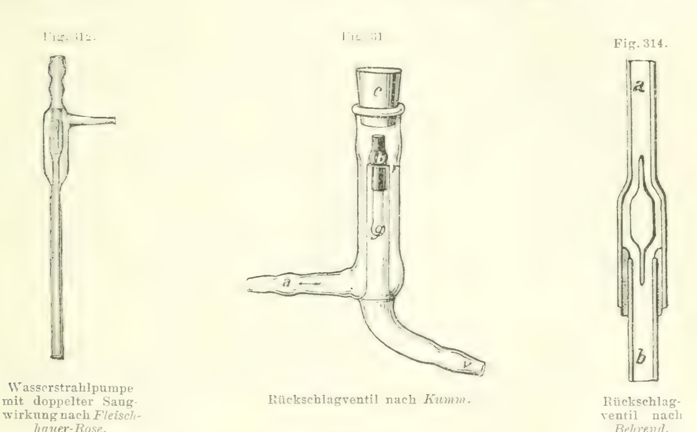
[2]) *M. Wresky*, Über Zusammensetzung und Spannung des Dampfes binärer Flüssigkeitsgemische. 1. Teil, aus dem Russischen übersetzt von *W. Kangro*, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **81**, S. 28 (1912).

[3]) *M. Wresky*, loc. cit. S. 29.

[4]) *H. Göckel & Co.*, Wasserstrahlpumpe mit doppelter Saugwirkung nach *Fleischhauer-Rose*. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1185 (1910).

die Dichtung durch Andrücken eines Gummiteils an einen Glasteil bewirkt wird. Gummi und Glas verkleben erst nach sehr langer Berührung, und der Verschluß bleibt auch bei sehr großer Erschlaffung des Gummis noch dicht. Einlagerungen wirken dank der Nachgiebigkeit des Gummis nicht störend. Auf Grund dieser Erwägungen ist das nebenstehend abgebildete Rückschlagventil konstruiert worden[1] (Fig. 313). Dieses Ventil zeichnet sich auch in hohem Maße dadurch vor anderen aus, daß es sehr leicht auseinander genommen werden kann; es ist daher bequem zu reinigen und der Gummiüberzug des Ventilkörpers ohne Mühe zu erneuern.

Außerordentlich ähnlich, nur leichter selbst herzustellen ist das in Fig. 314 dargestellte Ventil: In einem etwa 10 *mm* weiten, am Ende ver-



Wasserstrahlpumpe mit doppelter Saugwirkung nach *Fleischhauer-Rose.*

Rückschlagventil nach *Kumm.*

Rückschlagventil nach *Behrend.*

jüngten Glasrohr *(a)* steckt ein zweites *(b)*, durch ein Stück Kautschukschlauch so befestigt, daß dieser nach innen etwas über das Ende von *b* hinausragt. In der so gebildeten Höhlung bewegt sich mit geringem Spielraum ein kurzes Glasrohr, das, durch seine ausgezogenen Enden geführt, beim Zurücksteigen des Wassers gegen den Schlauch gedrückt wird und diesen verschließt.[2]

Ähnlich sind ferner die von *Scholvien*[3] und von *Hutchinson*[4] angegebenen Rückschlagventile, die sich ebenfalls durch Einfachheit in der Konstruktion und Zuverlässigkeit in der Wirkung auszeichnen.

---

[1]) *A. Kumm*, Ein neues Rückschlagventil. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1136 (1910).

[2]) *R. Behrend*, Über ein einfaches Rückschlagventil für Wasserstrahlpumpen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 807 (1911).

[3]) *K. Scholvien*, Glasventil mit Gummidichtung zum Absperren von Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. **25**, S. 397 (1901).

[4]) *H. B. Hutchinson*, Ein einfaches Ventil für Filterpumpen. Chem. News. Vol. **106**. p. 99 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 1417.

Auf die vielen übrigen neu vorgeschlagenen, mehr oder minder komplizierten Rückschlagventile kann hier nicht näher eingegangen werden.[1])

Auch bezüglich einiger neuer Druckregulatoren sei auf die Literatur verwiesen.[2])

Ein besonders kräftig wirkendes Wasserstrahlgebläse zeigt Fig. 315.[3])

Kolben- und Kapselluftpumpen. (S. 137—140.)

Bei der Destillation an der *Geryk*-Ölluftpumpe (vgl. Bd. I, S. 138) nach der Methode von *E. Fischer* und *Harries*[4]) bedarf es nicht unbedingt der kostspieligen Anwendung von flüssiger Luft oder festen Kohlendioxyds mit Äther, sondern es genügt, Absorptionsflaschen mit konzentrierter Schwefelsäure, ferner mit Chlorkalzium und Phosphorpentoxyd einzuschalten, um Wasser- und Alkoholdämpfe aus der Apparatur zu entfernen.[5]) Hierbei ist jedoch der Übelstand sehr lästig, daß sich die Absorptions-Schwefelsäure rasch erwärmt und daher bald ausgewechselt werden muß. Um dem abzuhelfen, schaltet man nach dem Rezipienten, welcher mit dem Destillationskolben unmittelbar verbunden ist, einen stark wirkenden Rückflußkühler ein, dessen obere Öffnung mit dem zur Luftpumpe führenden Trockenapparat verbunden ist.[6]) — Eine prinzipiell neue, mechanische Luftpumpe, die auf der Gasreibung zwischen bewegten Flächen beruht, die sogenannte Molekularluftpumpe, schlug *Gaede*[7]) vor.

Quecksilberluftpumpen. (S. 140—144.)

Eine äußerst einfache und praktische Form der Töplerpumpe, wie man sie sich von jedem Glasbläser herstellen lassen kann, ist in Fig. 316

---

[1]) Vgl. z. B.: *A. Berg*, Sicherheitsventil für die Wasserstrahlpumpe. Bull. Soc. Chim. [4], T. **9—10**, p. 621 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 409 (1911). — *Bachfeld & Co.*, Doppelrückschlagventil. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 50 (1910).

[2]) Siehe u. a.: *M. Le Blanc* und *E. Plaschke*, Über die Darstellung von Formaldehyd aus Methylalkohol nach dem Kontaktverfahren. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **17**, S. 46 (1911). — *H. J. Reiff*, Druckregler für die Vakuumdestillation. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **22**, S. 1360 (1909).

[3]) *O. Mittelbach*, Neues Wasserstrahlgebläse. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 649 (1909). — Über ein Wasserstrahlgebläse mit doppelten Düsen siehe auch: *B. Tolmacz & Co.*, Neues Wasserstrahlgebläse aus Glas. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1152 (1912).

[4]) *Emil Fischer* und *C. Harries*, Über Vakuumdestillation. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **35**, S. 2158 (1902).

[5]) *G. Doby*, Über die allgemeine Anwendung der *Geryk*-Luftpumpe zur Vakuumdestillation. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 756 (1911). — Siehe auch: *P. A. Levene* und *D. D. van Slyke*, Zur Methodik der Destillation der Aminosäureester mittelst der Geryk-Pumpe. Biochem. Zeitschr. Bd. **10**, S. 214 (1908); Chem. Zentralbl. 1908, II, S. 2.

[6]) *G. Doby*, loc. cit.

[7]) *W. Gaede*, Ein neues Prinzip für Luftpumpen: Die Molekularluftpumpe. Verh. d. Deutsch. physik. Gesellsch. Bd. **14**, S. 775 (1912); Zeitschr. f. Instrumentenkunde. Bd. **32**, S. 299 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 1515.

abgebildet.[1]) Im Gegensatz zu einigen anderen neuen Quecksilberluftpumpen gestattet diese Pumpe nicht nur das Auspumpen eines Gases aus dem Gefäß, sondern auch ein restloses Aufsammeln des Gases durch Überstülpen eines mit Quecksilber gefüllten Röhrchens über das aufwärts gebogene Ende der Kapillare. Auch kann die Pumpe leicht gereinigt werden. Für die meisten Zwecke des Laboratoriums genügt für den schräg nach oben gerichteten Kolben *A* ein Fassungsraum von 100 *cm*³ Inhalt. Das Rohr *B* soll nicht über 4 *mm* lichte Weite haben. Der Schwimmer in diesem Rohr wird oben mit Schmirgel und Terpentin leicht eingeschliffen. Ein Nachteil dieser Pumpe, den sie mit allen Töplerpumpen teilt, ist der Umstand, daß verhältnismäßig viel Quecksilber notwendig ist, ferner daß das Quecksilber durch den Gummischlauch verunreinigt wird und daß sie verhältnismäßig langsam arbeitet.

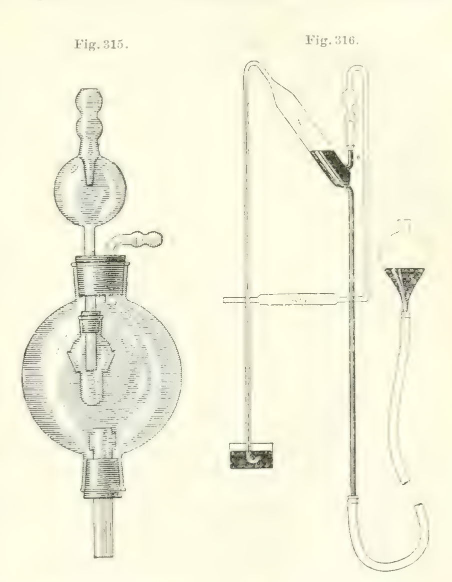


Fig. 315. Wasserstrahlgebläse nach *Mittelbach*.

Fig. 316. *Töpler*-Quecksilberluftpumpe nach *Antropoff*.

Eine ähnliche, ebenfalls auf dem Töplerprinzip beruhende, aber völlig selbsttätig wirkende Quecksilberluftpumpe schlug *Johnson*[2]) vor. In dieser Pumpe wird das Ansteigen und Sinken des Quecksilbers automatisch durch eine Wasserstrahlpumpe besorgt, von deren Wirksamkeit die Dauer eines Kreislaufes des Quecksilbers etwa in den Grenzen zwischen 30 und 60 Sekunden abhängt. Außer der selbsttätigen Wirkung hat die Pumpe den Vorzug, daß die Außenluft nicht durch das benutzte Quecksilber hindurchgeht: eine Oxydation des Metalls sowie das Eindringen von Staub ist infolgedessen unmöglich.

[1]) *A. v. Antropoff*, Eine vereinfachte und verbesserte Form der *Töpler*schen Quecksilberluftpumpe. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 979 (1910). — Vgl. auch über eine Anwendung dieser Pumpe: *E. Ebler*, Über die Bestimmung des Radiums in Mineralien und Gesteinen. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **18**, S. 533 (1912).

[2]) *F. M. G. Johnson*, Eine einfache automatische Quecksilberpumpe. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **34**, p. 909 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 982 und Chem.-Ztg. Bd. **36**. Rep. S. 589 (1912).

Auch die Sprengelpumpen (vgl. Bd. I, S. 141) haben manche Neukonstruktionen erfahren. Die Leistungsfähigkeit der *v. Babo-Krafft*schen Quecksilberpumpe[1]) wurde durch Anbringen zweier Fallröhren statt der einen verdoppelt.[2]) Nach *Beutell*[3]) muß das Quecksilber in der Sprengelpumpe elektrisch geladen sein, wenn es in einem geraden Fallrohr dicht gegen die Glaswand abschließen soll, da nur durch die elektrische Anziehung zwischen Glas und Quecksilber ein zuverlässiger Abschluß geschaffen wird. Die elektrische Ladung wird dem Quecksilber beim Durchströmen eines als Tropfenbildner wirkenden, knieförmigen, engen Glasrohrs erteilt (Fig. 317). Die Pumpe arbeitet nach dem Erfinder[4]) bei einfacher Handhabung auch ohne Aufsicht unbedingt sicher, gibt in kurzer Zeit das höchste Vakuum, ist vor Bruch infolge der Schläge des Quecksilbers im Vakuum gesichert, braucht nur sehr wenig Quecksilber zur Füllung (8 bis 20 cm^3), arbeitet ohne Hähne und Schläuche, die das Quecksilber verunreinigen können und damit das Vakuum verschlechtern, und ist schnell und leicht zu reinigen. An Geschwindigkeit, mit der die Pumpe saugt, übertreffen sie nur die mit Motor betriebenen Quecksilberluftpumpen, wie die *Gaede*sche (vgl. Bd. I, S. 144) und die von *U. v. Reden*.[5])

Diese letztere wird durch die hin und her schwingende Bewegung eines halbkreisförmig gebogenen, zur Hälfte mit Quecksilber gefüllten Glasrohrs betätigt. Ein 500 cm^3 fassender, mit der Wasserstrahlpumpe evakuierter Kolben wird von dieser Pumpe in 3 Minuten auf etwa $^1/_{100}$ *mm* Quecksilbersäule entleert, in 4 Minuten auf etwa $^1/_{1000}$ *mm* und in 6 Minuten auf etwa $^1/_{10000}$ *mm*.

Auch nach dem Prinzip der *Bunsen*schen Wasserstrahlpumpe wurde eine Quecksilberluftpumpe konstruiert.[6]) Das Quecksilber wird durch eine Zentrifuge mit Flügeln aus poliertem Stahl oder dgl. in einen Injektor geschleudert, der ganz nach Art der Wasserstrahlpumpen gebaut ist, und kreist kontinuierlich in dem Apparat, getrieben von der zugleich als Zirkulationspumpe ausgebildeten Zentrifuge. —

[1]) *F. Krafft* und *H. Weilandt*, Sublimationstemperaturen beim Vakuum des Kathodenlichtes. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **29**, S. 2242 (1896).

[2]) *Ch. Hansen*, Über eine neue Form der *v. Babo-Krafft*schen kontinuierlich arbeitenden Quecksilberluftpumpe. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **22**, S. 337 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 205 (1909).

[3]) *A. Beutell*, Quecksilberluftpumpe nach *Sprengel*. D. R.-P. 220.008; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 181 (1910).

[4]) *A. Beutell*, Automatische Rapid-Quecksilberpumpe für höchstes Vakuum. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 1342 (1910). — Hier findet sich auch eine kritische Zusammenstellung der wichtigsten Formen der Quecksilberluftpumpen.

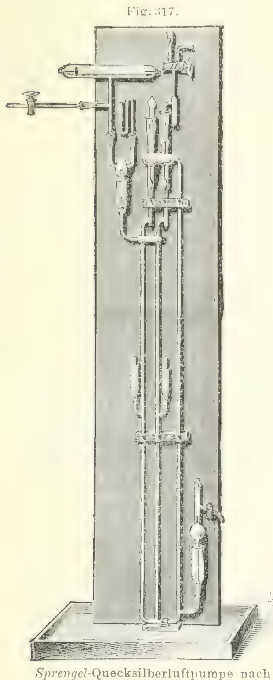
[5]) Schwingende Quecksilberluftpumpe mit Spiral-Vakuummeter. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 663 (1909). — Vgl. auch: *U. v. Reden*, Schwingende Quecksilberluftpumpe. D. R.-P. 179.774; Chem.-Ztg. Bd. **31**, Rep. S. 69 (1907).

[6]) *W. Burstyn*, Quecksilberstrahlluftpumpe. D. R.-P. 226.163; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 514 (1910).

Über eine neue Methode, Gase aus der Quecksilberluftpumpe aufzufangen, berichtete *Keyes.*[1]) Über eine bequeme Apparatur zur Destillation im absoluten Vakuum mit Hilfe einer *Gaede*pumpe unter Vorschaltung einer Kapsel- oder Wasserstrahlpumpe machten *Bordas* und *Touplain*[2]) einige praktische Angaben. —

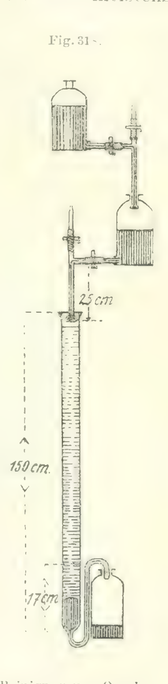
Zur Reinigung von Quecksilber dient gewöhnlich verdünnte Salpetersäure oder Mercuronitratlösung, mit der das Metall meistens in dem von *Lothar Meyer*[3]) angegebenen Apparat gewaschen wird. Eine Modifikation dieser Vorrichtung schlug später u. a. *Hildebrand*[4]) vor. Eine weitere Verbesserung des Apparates mag die nebenstehend abgebildete Form bedeuten[5]) (Fig. 318): Das 5 *cm* weite und 1·5 *m* lange Rohr ist mit 8%iger Salpetersäure gefüllt. Die feine Verteilung des Quecksilbers wird dadurch bewirkt, daß es durch Rehleder gepreßt wird, welches über das offene Ende eines 25 *mm* weiten Glasrohres gespannt und mittelst einer Schnur festgebunden ist. Dieses Glasrohr ist auf der einen Seite verengt und an ein 5 *mm* weites Rohr angeschmolzen,

Fig. 317.



Sprengel-Quecksilberluftpumpe nach *Beutell.*

Fig. 318.



Reinigung von Quecksilber nach *Moore.*

[1]) *F. G. Keyes,* Verbesserte Methode zum Auffangen von Gasen aus der Quecksilberluftpumpe. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 1271 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**. Rep. S. 49 (1910).

[2]) *F. Bordas* und *F. Touplain,* Destillation und Trocknung im absoluten Vakuum. Ann. Falsific. T. 4, p. 182 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 301 (1911).

[3]) *Lothar Meyer,* Bequeme Vorrichtung zur Reinigung des Quecksilbers. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **2**, S. 241 (1863).

[4]) *J. H. Hildebrand,* Die Reinigung von Quecksilber. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 933 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 485 (1909).

[5]) *C. J. Moore,* Die Reinigung von Quecksilber. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 735 (1910).

das mit dem T-Rohr der Sammelflasche verbunden ist. Betreffs der Handhabung des Apparates sei auf die Originalabhandlung verwiesen, ebenso bezüglich einer anderen, demselben Zweck dienenden Vorrichtung.[1])

Nach Vorschlägen von anderer Seite[2]) wird verunreinigtes Quecksilber, das man bis zur Reinigung in einer Flasche mit etwas konzentrierter Schwefelsäure aufbewahrt, am besten zunächst mit Wasser unter der Wasserleitung gewaschen, dann mit starker Natronlauge gekocht, abermals mit Wasser gewaschen, mit Fließpapier getrocknet und endlich noch heiß durch ein Filter mit abgeschnittener Spitze gegossen. Um die im Quecksilber enthaltenen unedlen Metalle wie Zink und Blei zunächst zu oxydieren, leitet man einen Luftstrom durch das Quecksilber[3]) und schüttelt es dann eine Zeitlang mit Holzkohlenpulver durch, das reichlich Sauerstoff absorbiert hat.[4])

Destillation von unreinem Quecksilber im Vakuum[5]) (vgl. Bd. I, S. 142) genügt allein auf keinen Fall zur Reinigung, da im luftleeren Raum nicht nur Fett und seine Zersetzungsprodukte, sondern auch gelöste Metalle, wie Zink, Blei und andere, quantitativ mit übergehen. Eine Reinigung durch chemische Agenzien muß daher der Destillation stets vorausgehen.[6])

Vakuumerzeugung unter Benutzung von Kältemitteln. (S. 145—147.)

Auf eine Verbesserung der *Erdmann*schen Apparatur (Bd. I, S. 145 und Fig. 307 auf S. 146) sei hier nur hingewiesen.[7])

Über die Absorption von Gasen durch Holzkohle liegen eingehende Untersuchungen vor, aus denen sich die Schlußfolgerung ableiten läßt, daß die Holzkohle als eine stark überkaltete Flüssigkeit aufzufassen ist, die trotz ihrer mechanischen Starrheit die lösenden Eigenschaften der flüssigen Phase aufweist.[8])

b) Die Druckmessung. (S. 147—151.)

Für sehr exakte Druckmessungen wurde ein Spiralmanometer aus Quarzglas vorgeschlagen, dessen Ausschläge in einem Spiegel mit Fern-

[1]) *L. J. Desha,* Ein Apparat für die Reinigung von Quecksilber. Amer. Chem. Journ. Vol. **41**, p. 152 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **33**, Rep. S. 205 (1909).

[2]) *A. Beutell,* Automatische Rapid-Quecksilberpumpe für höchstes Vakuum. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 1343 (1910).

[3]) Nach *Berzelius*; vgl.: *Maumené*, Chem.-Ztg. Bd. **12**, S. 808 (1888) und: *Crafts*, ebenda, S. 741.

[4]) *W. R. Forbes,* Reinigung von Quecksilber. Chem. News. Vol. **106**, p. 74 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 1097.

[5]) Siehe z. B.: *J. Pollak,* Quecksilberdestillierapparat. Ann. d. Physik [4], Bd. **15**, S. 1049 (1904); Chem. Zentralbl. 1905, I, S. 417. — *L. Dunoyer,* Apparat zur raschen Destillation des Quecksilbers im Vakuum. Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. **154**, p. 1344 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 470.

[6]) Vgl. auch z. B.: *W. Hempel,* Gasanalytische Methoden, 3. Aufl. 1900, Braunschweig (F. Vieweg & Sohn), S. 86 ff.

[7]) Siehe: *Bedford,* Inaug.-Dissert. Halle 1906.

[8]) *Ida F. Homfray,* Die Absorption von Gasen durch Holzkohle. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **74**, S. 129 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 601 (1910).

rohr und Skala beobachtet wurden. Die Skala war auf einem Kreisbogen von 1·2 *m* Radius und 2 *m* Länge aufgeklebt.[1])

Ein von *Hale*[2]) vorgeschlagenes Manometer, mit dem Druckmessungen bis zu 0·00001 *mm* Quecksilbersäule ausgeführt werden können, gründet sich auf die Theorie, daß bei niedrigem Drück die Wärmeleitfähigkeit der Gase eine Funktion des Druckes ist. —

Die sehr handlichen und bequemen abgekürzten Quecksilbermanometer (vgl. Bd. I, S. 148) leiden an dem Übelstand, daß sie leicht verschmutzen (z. B. durch Zurücksteigen von Wasser aus den Wasserstrahlpumpen) und dann nur höchst umständlich zu reinigen und neu zu füllen sind (Auskochen des Quecksilbers). Diesem Übelstand suchen verschiedene Neukonstruktionen abzuhelfen. Das beistehend abgebildete Manometer[3]) (Fig. 319)

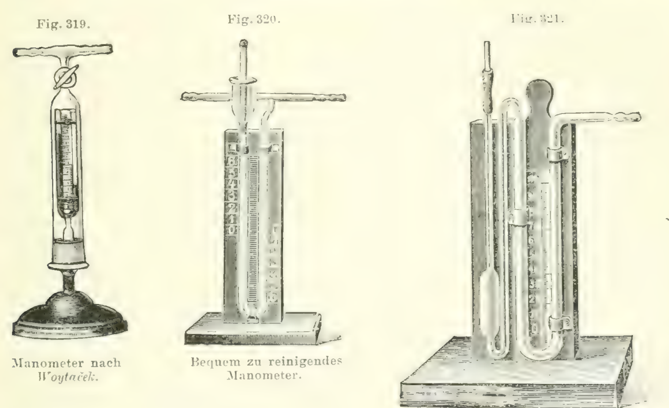


Fig. 319. Manometer nach *Woytaček.*

Fig. 320. Bequem zu reinigendes Manometer.

Fig. 321. Manometer nach *Christ.*

ist gegen Verschmutzung weitgehend gesichert: Dringt z. B. einmal Wasser ein, so kann dieses zunächst nur in den äußeren Mantel des Instrumentes, nicht in dieses selbst gelangen. Der Apparat kann leicht auseinander genommen werden. Der Hahn ist als Dreiweghahn ausgebildet. Bequem neu zu füllen sind abgekürzte Quecksilbermanometer, deren geschlossener Schenkel durch einen Schliff mit Quecksilberdichtung leicht zugänglich ist[4]) (Fig. 320).

[1]) *G. Starck* und *M. Bodenstein*, Die Dissoziation des Joddampfes. Zeitschr. f. Elektrochem. Bd. **16**, S. 962 (1910). — Vgl. auch: *G. Preuner* und *W. Schapp*, Dissoziationsisothermen des Schwefels zwischen 300 und 850°. Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. **68**, S. 131 (1910). — *G. Preuner* und *J. Brockmöller*, Gasdruckmessungen mit Spiralmanometer aus Quarzglas. Ebenda, Bd. **81**, S. 129 (1912).

[2]) *C. F. Hale*, Die Messung geringer Gasdrucke. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1438 (1911).

[3]) *C. Woytaček*, Barometerprobe für den Laboratoriumsgebrauch. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 1429 (1911).

[4]) Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin; vgl. Liste 120 der Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin, S. 288, Fig. 2548.

Ein ebenfalls leicht zu füllendes, sich durch das Fehlen eines Schliffes auszeichnendes Manometer[1]) zeigt Fig. 321. Der Abschluß des geschlossenen Schenkels wird hier durch einen kapillaren Quecksilberfaden bewirkt.

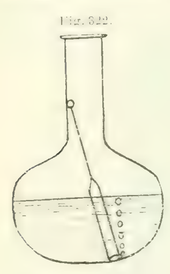
An Stelle des *Mac Leod*schen Vakuummeters wurde ein spiralförmiges vorgeschlagen, das nur den 100. Teil der für jenes notwendigen Quecksilbermenge benötigt.[2]) —

Die Ursache einer Drucksteigerung in einem völlig geschlossenen hochevakuierten Glasgefäß ist häufig auf die Verdampfung einer adsorbierten Wasserhaut (vgl. oben, S. 661) zurückzuführen.[3])

c) Die übrige Apparatur und allgemeine Regeln. (S. 151—155.)

Zur Verhütung des Stoßens im Vakuum siedender Flüssigkeiten wurde empfohlen, in das Siedegefäß einige grieß- bis erbsengroße Koksstücke hineinzugeben.[4]) Dieses poröse Material dürfte ebenso wie Stückchen ungebrannten Tons oder Bimsteins wegen seines Luftgehaltes besser wirken als die sonst für den gleichen Zweck üblichen Glasperlen und Granaten, die gewöhnlich nur kurze Zeit wirksam sind. Von anderer Seite wurde zur Vermeidung des Siedeverzugs folgende einfache Vorrichtung[5]) vorgeschlagen: Ein Glasröhrchen, etwa 6—8 *cm* lang und 3—5 *mm* weit, wird einerseits scharf abgeschnitten, andrerseits zugeschmolzen und mit einem kurzen, in einer Öse endenden eingeschmolzenen Platindraht versehen, der zum bequemen Handhaben des Röhrchens dient. Dieses wird mit seinem offenen Ende nach unten, fast senkrecht, in die siedende Flüssigkeit gestellt, derart, daß es noch mit Luft gefüllt bleibt (Fig. 322).

Fig. 322.



Mittel gegen Siedeverzug nach *Pieszczek*.

Eine ähnliche Einrichtung, nämlich eine kleine Glocke, in der sich ein Luftbläschen befindet, empfahl bereits *Gernez*[6]) zur Verhinderung des Siedeverzugs. Dieses Mittel wirkt zwar zunächst gut, erweist sich aber bald

[1]) *E. Christ*, Neues abgekürztes Vakuummeter für den Laboratoriumsgebrauch. Verein. Fbken. f. Laboratoriumsbedarf, G. m. b. H., Prosp. Nr. 151 (1911/12). S. 15.

[2]) Schwingende Quecksilberluftpumpe mit Spiral-Vakuummeter. Chem.-Ztg. Bd. 33, S. 663 (1909).

[3]) *E. Cohnstaedt*, Über die Wasserhaut auf Glas und Aluminium und über ihren Einfluß auf den Druck in Vakuumröhren. Ann. d. Physik [4], Bd. 38, S. 223; Chem. Zentralbl. 1912. II. S. 83.

[4]) *A. Hahn*, Ein neuer Fraktionieraufsatz. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. 43, S. 421, Fußnote 1 (1910).

[5]) *E. Pieszczek*, Vermeidung des Stoßens siedender Flüssigkeiten. Chem.-Ztg. Bd. 36, S. 198 (1912).

[6]) *D. Gernez*, Untersuchungen über das Sieden. Annal. de Chim. et de Phys. [5], T. 4, p. 335 (1875); Chem. Zentralbl. 1875, S. 720.

ebensowenig dauernd wirksam, wie die bisher aufgeführten. Nach *Wrewsky*[1]) kann nun die Wirksamkeit dieser Einrichtung bedeutend verlängert werden, wenn man die das Bläschen einschließende Glocke rotieren läßt. Hierzu ist ein gewöhnlicher glockenförmiger Rührer aus Glas verwendbar, bei dem die Wand am unteren Teile der Glocke mit Löchern versehen ist. Nach Füllen des Siedegefäßes mit Flüssigkeit bleibt in der Glocke ein geringer Rest Luft übrig, der auch bei der Druckverminderung nicht ganz entfernt wird: Es senkt sich dann nur die Flüssigkeitssäule so lange, bis die Luft den Rand der Löcher erreicht hat. Diesen entströmen nun ununterbrochen während des Siedens kleine Bläschen, und es genügt eine kleine Menge Luft für einen beliebig lange fortgesetzten Versuch. Das Durchrühren von Lösungen während der Destillation wurde auch von *Schreinemaker*[2]) erprobt und als praktisch erwiesen.

In vielen Fällen hat sich ferner das Erhitzen mittelst stromdurchflossenen, in der Flüssigkeit selbst befindlichen Platindrahts statt mit dem Bunsenbrenner als elegantes Mittel gegen den Siedeverzug gut bewährt.[3])

Nach *Spurrier*[4]) stellt man zur Verhinderung des Stoßens beim Abdestillieren von Alkohol aus einer wässerigen Lösung, welche mit einer spezifisch leichteren Flüssigkeit überschichtet ist, in das Siedegefäß schräg ein oben und unten offenes Glasrohr in der Weise, daß es mit der oberen Hälfte an der Innenwandung des Kolbens anliegt. Das lästige Überschäumen wasserhaltigen Teers und ähnlicher Flüssigkeitsgemische beim Destillieren kann durch zwei ineinander gesteckte Zylinder aus Messingdrahtnetz, die man im Kolbenhals unterhalb des seitlichen Ansatzrohrs an Drähten aufhängt, vermieden werden.[5])

Von *Beckmann*[6]) wurde als Mittel, Siedeverzug zu verhindern, vorgeschlagen, kleine aus dünnem Blech zusammengerollte Platinstücke in Form von Tetraedern in das Siedegefäß zu legen. Eine Reihe anderer

[1]) *M. Wrewsky,* Über die Zusammensetzung und Spannung des Dampfes binärer Flüssigkeitsgemische, 1. Teil, aus dem Russischen übersetzt von *W. Kangro.* Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **81**, S. 5 (1912).

[2]) *F. A. H. Schreinemakers,* Dampfdrucke binärer und ternärer Gemische. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **35**, S. 460 (1900).

[3]) *J. v. Zawidzki,* Über die Dampfdrucke binärer Flüssigkeitsgemische. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **35**, S. 135 (1900). — *Th. W. Richards* und *J. H. Mathews,* Über elektrisches Heizen bei der fraktionierten Destillation, aus dem Englischen übersetzt von *Wa. Ostwald.* Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **64**, S. 120 (1908). — *E. Beckmann,* Erfahrungen über elektrisches Heizen bei ebullioskopischen Bestimmungen und bei der fraktionierten Destillation. Ebenda. S. 506.

[4]) *H. Spurrier,* Verhinderung des Stoßens. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 1632 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 134 (1912).

[5]) *C. R. Downs,* Bemerkung zur Destillation von wasserhaltigem Teer. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **3**, p. 110 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 371 (1911).

[6]) *E. Beckmann,* Beiträge zur Bestimmung von Molekulargrößen. IV. Neuerungen an den Apparaten. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **21**, S. 246 (1896).

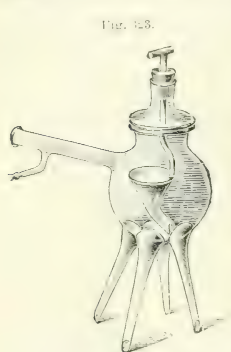
praktischer Maßregeln, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, schlug *Kröner*[1]) zur Verhütung des Siedeverzugs vor. —

Die *Brühl*sche Vorlage (vgl. Bd. I, S. 152), die vom Erfinder noch weiter verbessert worden ist[2]), hat sich zum getrennten Auffangen der einzelnen Fraktionen bei der Vakuumdestillation sehr gut bewährt. Auf einige kleine Verbesserungen des Apparates sei hier nur hingewiesen.[3])

Der Fraktioniervorstoß von *Raikow* (vgl. Bd. I, S. 154) hat ebenfalls eine kleine Modifikation erfahren[4]) (Fig. 323). Ihr Vorzug vor der ursprünglichen Form besteht darin, daß die Vorlage mit ihren vier Aufnahmegefäßen fest stehen bleibt und nur ein kleiner Trichter im Innern der Vorlage gedreht zu werden braucht. Der Apparat erfordert aber wegen seiner Zerbrechlichkeit ein sehr vorsichtiges Arbeiten.

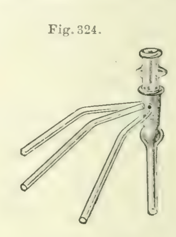
Bei allen bisher üblichen Vakuum-Fraktioniervorlagen mit auswechselbaren Gefäßen war eine scharfe Trennung der einzelnen Fraktionen deshalb nicht zu erzielen, weil das im Destillationsrohr befindliche Material stets beim Umschalten der Vorlage die neue Fraktion verunreinigte. Dieser Mangel ist durch die beistehend abgebildete Konstruktion vermieden (Fig. 324): Jede Fraktion hat hier nicht nur ihre besondere Vorlage, sondern auch ihr besonderes Destillationsrohr für sich allein. Durch Drehen des gläsernen Stopfens kann eine Vorlage nach der anderen mit dem Siedekolben verbunden werden.[5])

Fig. 323.



Fraktioniervorstoß nach *Glaser*.

Fig. 324.



Fraktioniervorrichtung nach *Hahn*.

Ein praktischer Kühler für Vakuumdestillationen ist in Fig. 325 dargestellt.[6]) Damit die Dämpfe der destillierenden Flüssigkeit möglichst vollständig kondensiert werden und nicht in die Vakuumpumpe hineingelangen, ist die Vorlage nicht direkt mit der Pumpe verbunden, sondern

---

[1]) *A. Kröner*, Mittel gegen Siedeverzüge. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **66**, S. 637 (1909).

[2]) *J. W. Brühl*, Über einige Eigenschaften und die Konstitution des freien Hydroxylamins und seiner Homologen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **26**, S. 2510 (1893).

[3]) Vgl.: *Bachfeld & Co.*, Drehvorrichtung für Vakuumdestillationsvorlagen. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 27 (1910). — *E. John*, Verbesserungen an Vakuumdestillationsvorlagen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 943 (1911).

[4]) *A. Glaser*, Neue Vakuumdestillationsvorlage. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 437 (1912).

[5]) *A. Hahn*, Fraktioniervorrichtung. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 1725 (1910).

[6]) *H. Gödecker* und *R. Rose*, Neuer Kühler für Vakuum-Destillation. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 463 (1911).

durch Vermittlung eines den Kühler in seiner Längsrichtung durchstreichenden Glasrohrs mit dem Stutzen *C*: bei *A* tritt das Kühlwasser ein, bei *B* aus. —

Elektrisch heizbare Vakuum-Fraktionierapparate wurden in großer Zahl vorgeschlagen.[1]) In Fig. 326 ist ein Apparat dargestellt, der sich besonders zur fraktionierten Destillation leicht erstarrender Fette im Vakuum eignet. Er kann mit Hilfe eines gut schließenden Vakuumexsikkators, dessen Deckel mit Karborundumpulver nachgeschliffen worden ist, leicht angefertigt werden. Das Abflußrohr ist mit einem elektrisch heizbaren Widerstandsdraht (vgl. Bd. I, S. 54) umwickelt, um es auf den Schmelzpunkt des übergehenden Materials erwärmen zu können.[2]) —

Von neuen Kitten und Hahnfetten sind folgende zu erwähnen (siehe auch Bd. V, S. 594—595). Als Hahnschmiere für Vakuumapparate

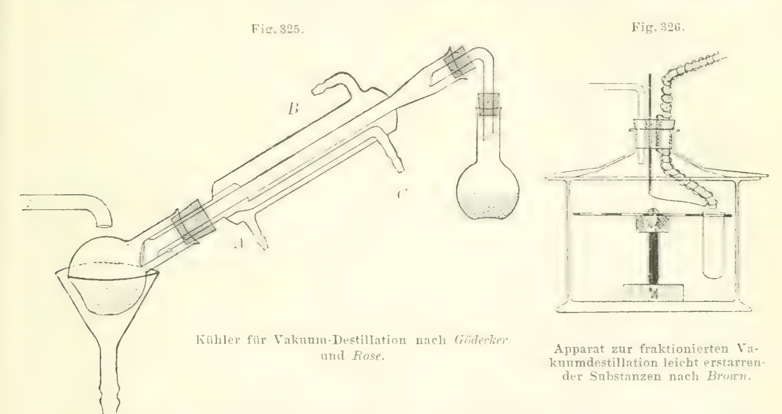


Fig. 325. Kühler für Vakuum-Destillation nach *Gödecker* und *Rose*.

Fig. 326. Apparat zur fraktionierten Vakuumdestillation leicht erstarrender Substanzen nach *Brown*.

hat sich eine Auflösung von 18 *g* Guttapercha in 26 *g* geschmolzenem Paraffin und 20 *g* schwerem Mineralöl sehr gut bewährt.[3]) Speziell beim Arbeiten mit Ozon empfiehlt es sich, als Hahnschmiere Metaphosphorsäure anzuwenden.[4])

[1]) Siehe z. B.: *J. Bredt* und *A. van der Maaren-Jansen*, Vakuum-Destillierapparat mit elektrisch heizbarer Abflußvorrichtung für feste, hoch oder niedrig schmelzende Stoffe. *Liebigs* Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. **367**, S. 354 (1909). — *Th. W. Richards* und *J. H. Mathews*, Fraktionierte Destillation bei Anwendung elektrisch erzeugter Wärme. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 1200 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 33 (1910). — *H. S. Bailey*, Ein elektrisch heizbarer Vakuum-Fraktionierapparat. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **33**, p. 447 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 165 (1911).

[2]) *J. C. Brown*, Ein Apparat zur Destillation von Fetten und Fettsäuren im Vakuum des Kathodenlichtes. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 736 (1910).

[3]) *F. G. Keyes*, Verbesserte Methode zum Auffangen von Gasen aus der Quecksilberluftpumpe. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **31**, p. 1271 (1909); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 49 (1910).

[4]) Vgl.: *Franz Fischer* und *K. Massenez*, Über die Darstellung von Ozon durch Elektrolyse. Zeitschr. f. anorg. Chem. Bd. **52**, S. 209 (1907).

Ein vorzüglicher Kitt wird aus Bleiglätte durch Zusatz von 10% Glyzerin erhalten. Den schädlichen atmosphärischen Einflüssen unterliegt er erst nach Jahren, indem sich die Bleiglätte infolge der Luftfeuchtigkeit und der Einwirkung von Kohlendioxyd in basisches Bleikarbonat [$Pb(OH)_2 . 2 PbCO_3$] verwandelt. Vor dieser Umwandlung ist der Kitt erforderlichenfalls dadurch zu schützen, daß die der Luft ausgesetzten Flächen mit einem undurchdringlichen Firnis überdeckt werden.[1])

Als ein guter Kitt hat sich ferner eine Mischung von gelöstem Bakelit mit Asbestfaser oder Ton oder Baryt erwiesen.[2])

Den Leinsamenkitt (vgl. Bd. I, S. 154) empfiehlt bereits *Berzelius*[3]): „Dieses Lutum macht sogleich dick, erhärtet bald und widersteht Säuren, Ammoniak u. a., verträgt aber natürlicherweise keine so starke Hitze, wobei es sich verkohlt. Es wird noch fester, wenn man, statt reinen Wassers, Milch, Kalkwasser oder schwaches Leimwasser nimmt."

Daß eingefettete Hähne unter gewissen Umständen Gase entwickeln und dadurch zu Trugschlüssen Veranlassung geben können, ist einleuchtend.[4])

Um Glasschliffe absolut luftdicht zu machen, hat sich die Quecksilberdichtung (vgl. Bd. I, S. 154), selbst ohne Anwendung von Fett, namentlich beim Arbeiten mit Quecksilberluftpumpen, ausgezeichnet bewährt. Bei einigermaßen aufeinander passenden Schliffflächen leistet der Kapillardruck des Quecksilbers dem Atmosphärendruck genügenden Widerstand, so daß kein Quecksilber durch den äußeren Luftdruck in das evakuierte Gefäß hineingetrieben wird. Bei Hähnen mit senkrecht stehenden Küken hat man einfach den Hahnmantel oben erweitert. In die nach Einführung des Hahnschlüssels gebildete Rinne füllt man das Quecksilber ein. Dann umgibt man den unten herausragenden Teil des verlängerten Hahnschlüssels mit einer unten dicht anschließenden Manschette und gießt hier ebenfalls Quecksilber hinein[5]) (Fig. 327). Auf ähnliche Weise kann man auch Flaschenstopfen dichten, die trotzdem jederzeit bequem gelüftet werden können[5]) (Fig. 328). Einen Hahn mit Quecksilberdichtung, der in jede beliebige Lage gebracht werden kann, selbst so, daß der Griff

[1]) *G. Gallo*, Über die Einwirkung der Luft auf Bleiglätte. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 705 (1909).

[2]) *L. H. Baekeland*, Neuere Entwicklung des Bakelits. Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. **3**, p. 932 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 159 (1912). — Derselbe, Phenol-Formaldehyd-Kondensationsprodukte. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1245 (1912).

[3]) *J. J. Berzelius*, Lehrbuch der Chemie, übersetzt von *F. Woehler*. Bd. **10**, 4. Aufl. 1841, S. 321.

[4]) Vgl. z. B.: *A. Benrath*, Umwandlung von Metallen in Kohlenstoff. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 187 (1910). — *W. Ramsay* (Erwiderung darauf), ebenda.

[5]) Siehe z. B.: *Franz Fischer* und *G. Iliorici*, Über die Produkte der Lichtbogen- und Funkenentladungen in flüssigem Argon bzw. Stickstoff. 3. Mitt.: Über Zinnstickstoff und pyrophores Zinn. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **42**, S. 534 (1909). — *Franz Fischer* und *O. Hähnel*, Über die Reindarstellung von Argon und Stickstoff. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **43**, S. 1438 (1910).

des Schlüssels nach unten zu stehen kommt, stellt Fig. 329 dar.[1]) In das Hahnküken sind zwei Rillen eingeschliffen. Zu diesen führen zwei in den Hahnmantel eingeschmolzene kurze Rohrstücke, durch die Quecksilber eingefüllt wird. Die Rillen und die Einfüllröhrchen müssen weit genug sein, um die Luft leicht entweichen zu lassen. Nach der Beschickung mit Quecksilber werden beide Einfüllstutzen mit kleinen Korken verschlossen und diese mit kleinen Siegellackkuppen versehen. Um zu verhindern, daß der Schlüssel aus dem Mantel herausfallen kann, ist jener etwas verlängert und mit einem Sperrstift versehen. Auch die von *Greiner* u. *Friedrichs*[2]) konstruierten Glashähne mit schräger Bohrung befinden sich für Quecksilberdichtung eingerichtet im Handel. (Fig. 330). Diese Art Hähne[3]) gewähren nicht nur, wie die obigen, einen absolut dichten Verschluß in der Längsrichtung des Hahnschlüssels, also gegen die äußere Atmosphäre, sondern auch einen absolut gasdichten Verschluß in der Richtung der Schenkelachse. Während der vorteilhafteste Schluß in dieser Richtung bei den gewöhnlichen Hähnen mit gerader Bohrung durch eine Drehung von nur 90° zustande kommt, kann bei den schräg gebohrten Hähnen eine Drehung von 180° aus der Öffnungsstellung zur Erreichung der sichersten Schlußlage ausgeführt werden, so daß diese Hähne eine bedeutend größere Schlußfläche als die gewöhnlichen Hähne mit gerader Bohrung besitzen.

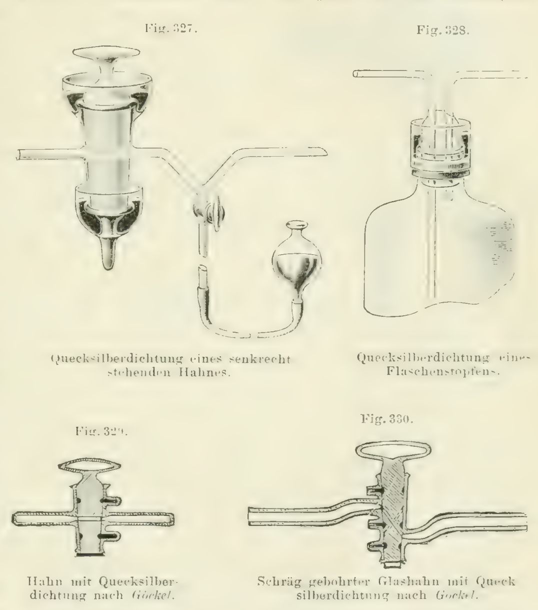


Fig. 327. Quecksilberdichtung eines senkrecht stehenden Hahnes.

Fig. 328. Quecksilberdichtung eines Flaschenstopfens.

Fig. 329. Hahn mit Quecksilberdichtung nach *Göckel*.

Fig. 330. Schräg gebohrter Glashahn mit Quecksilberdichtung nach *Göckel*.

[1]) *H. Göckel*, Ein in allen Lagen zu gebrauchender kompendiöser Hahn mit Quecksilberdichtung. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **13**, S. 961 (1900).

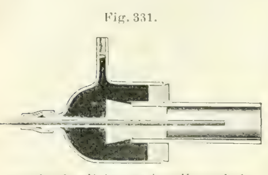
[2]) *Greiner & Friedrichs*, Einige neue Glasapparate. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **26**, S. 50 (1887).

[3]) *H. Göckel*, Glashahn mit Universal-Quecksilberdichtung. Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **13**, S. 1239 (1900).

Wie man Glas- und ebenso Kautschukstopfen auch in horizontaler Lage mit einer Quecksilberdichtung versehen kann, zeigt Fig. 331.[1])

Auf eine sehr praktische Vakuum-Destillationsvorrichtung, welche gestattet, eine große Anzahl kleiner Portionen Flüssigkeit im gleichen Apparat zu destillieren und dabei ohne Aufhebung des Vakuums den halbflüssigen Rückstand aus dem Kolben zu entfernen, sei hier nur hingewiesen.[2])

Fig. 331.



Quecksilberdichtung eines Kautschukstopfens.

3. Destillieren unter Überdruck. (S. 155.)

In der Piezochemie, d. h. der Chemie der hohen Drucke, gilt das *Chatelier*sche Prinzip, daß in einem gegebenen System bei Druckerhöhung die mit möglichster Volumverkleinerung verbundenen Verschiebungen eintreten. Läßt man also z. B. Gase oder Dämpfe unter Druck zusammen reagieren, so ist die Bildung flüssiger und fester Substanzen besonders begünstigt.[3]) Dieser Umstand ist beim Destillieren unter Überdruck im Auge zu behalten.

4. Destillieren mit Wasserdampf. (S. 155—158.)

a) Destillieren mit Wasserdampf von 100°. (S. 155—157.)

Die Destillation mit Wasserdampf spielt namentlich in der Chemie der ätherischen Öle eine große Rolle als Trennungs- und Reinigungsmethode[4]) (vgl. Bd. II, S. 988 ff.).

Der praktische Wert der Wasserdampfdestillation beruht darauf, daß ein Gemisch von Wasser und einem in diesem nicht völlig löslichen flüssigen oder festen Stoff niedriger siedet als jede der Komponenten allein. So siedet z. B. ein Gemisch von Wasser (Siedepunkt: 100°) und Benzol (Siedepunkt: 80°) bereits bei 69°[5]), ein Gemenge von Wasser und Terpentinöl (Siedepunkt: 158°) bereits bei 95·6°.[4])

Bei nicht allzu hoch siedenden binären Gemischen wasserunlöslicher Substanzen, z. B. von Benzol und Toluol, gibt die Destillation mit Wasser ausgezeichnete Resultate als Fraktioniermethode[6]) (siehe oben S. 735).

[1]) *Franz Fischer* und *O. Hähnel*, l. c. S. 1437.

[2]) Siehe: *J. Bloch* und *F. Höhn*, Über Wasserstoffpersulfid. III. Über Hydrodisulfid. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **41**, S. 1978 (1908).

[3]) Vgl. z. B.: *A. Stock*, Die experimentellen Ergebnisse anorganisch-chemischer Forschung im Jahre 1909. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 131 (1910).

[4]) Siehe z. B.: *E. Gildemeister* und *Fr. Hoffmann*, Die ätherischen Öle. Berlin (Jul. Springer), 1899, S. 142.

[5]) Vgl. z. B.: *F. W. Küster*, Lehrbuch der allgemeinen, physikalischen und theoretischen Chemie. 1907, S. 332 ff.

[6]) *A. Golodetz*, Über fraktionierte Destillation mit Wasserdampf. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **78**, S. 641 (1912). — Vgl.: Derselbe, Über neue Verfahren zur Trennung von nahesiedenden oder ungetrennt siedenden Flüssigkeitsgemischen. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 273 (1912). — Siehe auch: *Tichvinsky*, Über fraktionierte Destillation mit Wasserdampf. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. **80**, S. 632 (1912).

b) Destillieren mit überhitztem Wasserdampf. (S. 157.)

Ein von *Carliczek* angegebener Dampferzeuger, der auch überhitzten Wasserdampf liefert, ist bereits oben beschrieben worden (S. 702, Fig. 255). Auf einen schon früher von anderer Seite vorgeschlagenen Laboratoriumsapparat zur Ausführung von Destillationen mit überhitzten Wasserdämpfen sei hier nur hingewiesen.[1])

c) Destillieren mit Wasserdampf im luftverdünnten Raume. (S. 157—158.)

In manchen Fällen empfiehlt es sich bei der Destillation mit Wasserdampf im luftverdünnten Raume, den Wasserdampf zu überhitzen. Nach dieser Methode geht z. B. Glyzerin (Siedepunkt: 290°) unter 50 *mm* Druck bereits bei 187° über; das Destillat besteht zu 64·91% aus Glyzerin.[2])

5. Destillieren mit Alkohol- und Ätherdampf. (S. 158.)

Die Erscheinung, daß organische Substanzen mit Ätherdämpfen flüchtig sind, läßt sich ziemlich häufig beobachten. Sie wurde z. B. festgestellt am tertiären Nitroso-butan [$(CH_3)_3C.NO$], das erst bei etwa 76° schmilzt, aber eine ganz außergewöhnliche Flüchtigkeit zeigt[3]), und ferner an der Salizylsäure.[4])

Besonders wirksam als Reinigungsverfahren ist die Destillation mit den Dämpfen organischer Lösungsmittel, wenn man diese so wählt, daß sie gleichzeitig die Verunreinigungen der zu reinigenden Substanz aufnehmen. So destilliert man z. B. mit Vorteil Roh-Anthracen mit der dreifachen Menge Pyridindämpfen bei etwa 230°.[5])

6. Eindampfen. (S. 159—163.)

Das Eindampfen in rotierenden Tiegeln mit seitlich gerichtetem Brenner ist bereits oben beschrieben worden (S. 692). Das Verfahren eignet sich namentlich auch zum Abrauchen von konzentrierter Schwefelsäure in der quantitativen Analyse.

Wenn beim Eindampfen größerer Flüssigkeitsmengen in offener Schale diese die gesamte Lösung nicht in einer Portion faßt, so daß von Zeit zu Zeit die einzudampfende Flüssigkeit nachgetragen werden muß,

[1]) Vgl.: *B. Jaffé*, Laboratoriumsapparat zur Ausführung von Destillationen mit überhitzten Wasserdämpfen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **26**, S. 123 (1893).

[2]) *H. Duboritz*, Über die Destillation von schwer siedenden Substanzen. Seifensieder-Ztg. Bd. **38**, S. 575 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 411 (1911). — Über die Destillation von Glyzerin mit Wasserdampf bei Minderdruck vgl. auch: *F. J. Wood*, Mehrkörper-Destillation. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 99 (1910).

[3]) *Eug. Bamberger* und *Rich. Seligman*, Oxydation aliphatischer Basen vom Typus $\vdots C.NH_2$. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **36**, S. 686 (1903).

[4]) *Th. v. Fellenberg*, Die quantitative Bestimmung von Salizylsäure in Konfitüre. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. Bd. **1**, S. 141 und 145 (1910).

[5]) *K. Fankhähnel*, Reinigung organischer Substanzen durch Destillation oder Sublimation und nachfolgende Behandlung mit einem die Verunreinigungen aufnehmenden Lösungsmittel. D. R.-P. 226.112; Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 518 (1910).

bedient man sich mit Vorteil eines der oben angegebenen Niveauhalter (siehe die Apparate zum automatischen Abfiltrieren und Auswaschen von Niederschlägen; S. 722—726). —

Über das schnelle Trocknen von Zellbrei bei gewöhnlicher Temperatur durch Überleiten eines raschen, staubfreien Luftstromes über die in dünner Schicht ausgebreiteten feuchten Massen siehe Bd. III, S. 290 ff.

Um ein gegen Hitze sehr empfindliches Material, wie Milch, Fruchtsaft u. dgl., so rasch einzudampfen, daß eine Schädigung der Substanz vermieden wird, wurde vorgeschlagen, die Flüssigkeit in einzelnen Tropfen einzudampfen, während diese frei schweben. Man erzeugt zu dem Zwecke in einem stehenden Zylinder einen Sprühregen der einzudampfenden Flüssigkeit und erwärmt die schwebenden Tropfen durch Strahlung, indem man den Zylinder erhitzt. Jede direkte Berührung der Flüssigkeit mit den heißen Wänden des Zylinders wird vermieden; der Rückstand der eingedampften Tropfen fällt in ein gekühltes Sammelgefäß am Boden des Zylinders.[1])



Fig. 332.

Glashaube zum Trocknen von Niederschlägen auf dem Buchnertrichter nach *Egerton*.

Um Lösungen ohne Zuführung von Wärme zu konzentrieren, kann man auch ein Verfahren anwenden, das gleichsam ein umgekehrtes Dialysieren vorstellt: Man leitet die zu konzentrierende Lösung durch ein aus halbdurchlässigen Wänden gebildetes Rohrsystem, um das in entgegengesetzter Richtung eine konzentrierte Salzlösung von höherem osmotischen Druck geführt wird.[2])

7. Trocknen fester Körper. (S. 163—170.)

Zum raschen, bequemen Trocknen von Niederschlägen auf dem Büchnertrichter empfiehlt es sich, diesen mit einer kleinen Glashaube zu versehen, die mit einer Trockenröhre verbunden werden kann (Fig. 332). Die Haube ist etwas kleiner im Durchmesser als der Trichter und wird mit diesem durch einen Gummiring luftdicht verbunden. Wenn man einen Luftstrom, der vorher im Chlorkalziumrohr getrocknet worden ist, durch den Trichter leitet, verläuft die Trocknung sehr rasch. Ist die Substanz gegen den Sauerstoff oder das Kohlendioxyd der Luft empfindlich, so kann man ein anderes Gas, etwa Wasserstoff, über das Trockengut leiten. Auch eignet sich die Vorrichtung zum raschen Trocknen von Substanzen in Tiegeln, Schalen od. dgl.[3])

[1]) *C. H. Mehner*, Eindampfen oder Erwärmen von Flüssigkeiten aller Art. D. R.-P. 233.588; Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 243 (1911).

[2]) *A. Farago*, Konzentrieren von Lösungen. Österr. Pat.-Anm. 6910—10. Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 103 (1911).

[3]) *A. C. G. Egerton*, Ein Aufsatz für den Büchnertrichter. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 864 (1911).

Um ein Verstäuben von Substanz im Vakuumexsikkator beim Einlassen der Luft zu verhüten und diese gleichzeitig zu filtrieren, empfiehlt es sich, beim Öffnen des Hahnes ein Stückchen Filtrierpapier gegen die Hahnmündung zu pressen. Das Filtrierpapier saugt sich zunächst fest an und gibt dadurch, daß es nach einiger Zeit abfällt, ein Zeichen, daß der Druckausgleich beendigt ist. Im Handel befinden sich auch Vakuumexsikkatoren, deren besonders konstruierte Einlaßhähne ein Verstäuben von Substanz verhindern.[1])

Benutzt man als Trockenmittel im Exsikkator konzentrierte Schwefelsäure, so bildet sich an deren Oberfläche infolge Wasseranziehung eine Schicht verdünnter Säure, die ein geringeres spezifisches Gewicht hat und deshalb oben schwimmt.[2]) Eine Vermischung der Schichten durch Diffusion erfolgt nur langsam. Infolgedessen wird die trocknende Wirkung der konzentrierten Schwefelsäure bedeutend herabgesetzt, und zwar namentlich in den Fällen, wo in kurzer Zeit verhältnismäßig große Mengen Wasserdampf aufzunehmen sind. Hierzu ist aus dem angeführten Grunde Chlorkalzium als Trockenmittel besser als Schwefelsäure geeignet, besonders dann, wenn man es so in einen Trichter oder dgl. gibt, daß der zerflossene Teil abtropfen kann.[3]) Bilden sich Wasserdämpfe nur sehr langsam im Exsikkator, so dürfte andrerseits doch Schwefelsäure vor Chlorkalzium den Vorzug verdienen. Die Verwitterung eines organischen Baryumsalzes vollzog sich z. B. über konzentrierter Schwefelsäure in einem Exsikkator, wie er in Bd. I, S. 165, Fig. 336 dargestellt ist, etwa 4mal so rasch als über gekörntem Chlorkalzium im *Scheibler*schen Exsikkator (Bd. I, S. 164, Fig. 333).[4])

Von *Krafft*[5]) wurde Baryumoxyd in lockerer Form als Trockenmittel bei Anwendung hoher Vakua sehr empfohlen. Mit der Substanz wird nicht nur der Exsikkator beschickt, sondern auch ein zwischen diesem und der Luftpumpe eingeschaltetes U-Rohr. Schwefelsäure ist im Vakuum des Kathodenlichts nicht zu gebrauchen, da sie zu rasch verdampft und manchmal das Trockengut, z. B. Chlorbaryum, alsbald angreift.

Bezüglich des Natronkalkes als Absorptionsmittel für Kohlendioxyd wurde die alte Erfahrung bestätigt, daß das völlig trockene Material keine Absorptionsfähigkeit für das Gas besitzt.[6]) Eine Spur Wasser genügt aber, um die Reaktion einzuleiten. Ätznatron und Ätzkalk verhalten sich ähnlich.

Der Gehalt eines und desselben Zellulosematerials an hygroskopischem Wasser schwankt je nach den atmosphärischen Verhältnissen

---

[1]) *J. Wiese*, Neue Laboratoriumsapparate. Chem.-Ztg. Bd. **33**, S. 738 (1909).

[2]) Vgl.: *O. Kuhn*, Einige Bemerkungen über das Wägen. Chem.-Ztg. Bd. 34, S. 1108 (1910).

[3]) *F. Janda*, Neue Laboratoriumsapparate. Chem.-Ztg. Bd. **26**, S. 28 (1902).

[4]) *R. Kempf*, Elektrolytische Oxydation von p-Benzochinon. Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. **83**, S. 392 (1911).

[5]) *F. Krafft*, Über die Anwendung des Vakuums zum Trocknen wasserhaltiger Salze. Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. **40**, S. 4771 (1907).

[6]) *J. Casares*, Über die Absorption von Kohlendioxyd durch Natronkalk. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 998 (1911).

in weiten Grenzen. Um ein einheitliches Material von einem bestimmten mittleren Feuchtigkeitsgehalt für untereinander vergleichbare Versuche verschiedener Forscher zu erhalten, wurde vorgeschlagen, es über Schwefelsäure von 37·7%, die bei 20° nach *Regnault* eine Tension von 10·83 *mm* hat, zu trocknen.[1])

Zum Trocknen hitze- und luftempfindlicher Stoffe, wie Rübenbrei, Pektine, Eiweiß u. dgl., wurde ein Exsikkator konstruiert, der statt Luft Äther enthält.[2]) Der Äther löst das Wasser (er nimmt bei Zimmertemperatur 1·6—3% auf), die wässerige Schicht sinkt auf den Boden, wo Ätznatron sie entwässert, steigt daher alsbald wieder auf, und die intensive Zirkulation bewirkt rasche Trocknung. So sind z. B. 5—10 *g* Rübenbrei mit einem Gehalt von 78% Wasser in einigen Stunden auf 98·5% Trockensubstanz gebracht. Enthält das zu trocknende Material ätherlösliche Substanzen, wie Fette, Harze, Chlorophyll, so tritt natürlich gleichzeitig eine Extraktion dieser Stoffe ein. 40 *g* zerkleinerte Rübenblätter geben z. B. in 15 Stunden ihr gesamtes Chlorophyll ab, das beim Verdampfen des Äthers als lockeres feines Pulver von 3% Wassergehalt zurückbleibt.

Betreffs des Entwässerns kristallwasserhaltiger Salze im Vakuum des Kathodenlichts sei auf die Literatur verwiesen.[3])

Zum raschen und bequemen Austrocknen von Kolben, Flaschen usw. wurde ein kleiner elektrisch heizbarer Apparat ersonnen, der die manchmal untunliche[4]) Anwendung von Alkohol und Äther zum Trocknen überflüssig macht.[5])

8. Sublimieren. (S. 170—175.)

Die Reinigungs- und Trennungsmethode durch Sublimation hat sich dank ihres oft gar keinen Substanzverlust ergebenden Verlaufes namentlich auch bei qualitativen und quantitativen Bestimmungen und in der Mikroanalyse[6]) vortrefflich bewährt. Sie kann z. B. zum Nachweis von

[1]) *F. Klein*, Mitteilungen über neue Zelluloseforschungen. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 645 (1911).

[2]) *Staněk*, Trocknen empfindlicher Substanzen mittelst Äther. Böhmische Zeitschr. f. Zuckerind. Bd. **35**, S. 311 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 145 (1911).

[3]) *F. Krafft*, Über die Anwendung des Vakuums zum Trocknen wasserhaltiger Salze. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **40**, S. 4770 (1907).

[4]) Siehe z. B.: *A. Stock* und *A. Stähler*, Praktikum der quantitativen anorganischen Analyse. Berlin (J. Springer) 1909, S. 39/40.

[5]) *Baskerville* und *R. Stevenson*, Apparat zum Austrocknen von Kolben, Flaschen usw. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 60 (1910).

[6]) Siehe z. B.: *O. Tunmann*, Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. I. Zur Mikrochemie des Betulakampfers. Apoth.-Ztg. Bd. **26**, S. 344 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, I, S. 1656. — Derselbe, Der weitere Ausbau der Mikrosublimationsmethode und der Nachweis des Arbutins in Pflanzen. Ber. Deutsch. Pharm. Ges. Bd. **21**, S. 312 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, II, S. 398. — Derselbe, Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. II. Über den Nachweis und die Lokalisation des Andromedotoxins in Ericaceen. Apoth.-Ztg. Bd. **26**, S. 555 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, II, S. 644. — Derselbe, Zur Mikrochemie der Arecanuß. Pharm. Post. Bd. **44**, S. 703 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, II, S. 996. — Derselbe, Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. III. Der Nachweis des Äskulins durch Mikrosublimation, speziell für die Dia-

accharin[1]) und von Salizylsäure[2]) in Nahrungsmitteln dienen. Ferner läßt sich Theïn direkt aus den getrockneten und fein zerriebenen Teeblättern, die im Durchschnitt etwa 2—3·5% des Xanthinkörpers enthalten, heraussublimieren.[3]) Hierauf gründet sich ein Verfahren zur Unterscheidung von gebrauchtem (extrahiertem) und ungebrauchtem Tee und überhaupt ein qualitativer Nachweis von Theïn in Nahrungs- und Genußmitteln (Kakao, Kaffee, Kola u. dgl.).[4]) Die praktische Brauchbarkeit dieses Verfahrens wurde bestätigt[5]) und die Empfindlichkeit und Exaktheit der Sublimationsmethode hervorgehoben.[6]) Eine genaue Methode zur quantitativen Bestimmung des Kaffeïns im Tee und in grünen und gerösteten Kaffeebohnen wurde von *Burmann*[7]) ausgearbeitet. Selbst die Verfälschung von Kognak mit Teeauszug kann man mit Hilfe der Sublimationsmethode nachweisen.[8]) — Auch für die Mikrosublimation von Alka-

gnose des Rhizoma Gelsemii. Apoth.-Ztg. Bd. **26**, S. 812 (1911); Chem. Zentralbl. 1911, II, S. 1384. — Derselbe, Über angewandte Pflanzenmikrochemie und neuere Untersuchungen auf diesem Gebiete, zusammenfassender Vortrag. Chem. Zentralbl. 1911, II, S. 1745. — Derselbe, Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. IV. Notiz über die Anwendung von Jodzuckerlösung. Apoth.-Ztg. Bd. **27**, S. 261; V. Zur Mikrochemie der Colombowurzel. Ebenda, S. 268 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, I, S. 1591. — Derselbe, Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. VI. Vergleichende Untersuchungen über die Mikrosublimationsmethoden. Apoth.-Ztg. Bd. **27**, S. 494 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, II, S. 659. — *L. Rosenthaler*, Pyroanalyse der Drogen. Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. Bd. **21**, S. 338 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 469 (1911.) — *F. Tutin*, Die vorgeschlagene Methode der Mikrosublimation zum Nachweis von Äskulin und zur Identifizierung von Gelsemium. Pharm. Journ. [4], Bd. **34**, S. 157 (1912).

[1]) *A. Herzfeld* und *F. Wolf*, Über die Bestimmung der künstlichen Süßstoffe in Nahrungsmitteln. Zeitschr. d. Vereins d. Deutsch. Rübenzuckerind. 1898, S. 558; Chem. Zentralbl. 1898, II, S. 395. — Vgl.: *R. Kempf*, Praktische Studien über Vakuumsublimation. Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. **78**, S. 254 (1908).

[2]) *E. Philippe*, Ein neuer Sublimierapparat und einige damit gemachte Erfahrungen. Mitt. Lebensm. Hyg. Schweiz. Gesundh. Bd. **3**, S. 41 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 353 (1912).

[3]) Vgl. u. a.: *R. Kempf*, l. c. S. 247 und: Derselbe, Über das Theïn im Tee und seine Sublimierbarkeit. Arch. f. d. Gesch. d. Naturwissensch. u. d. Technik. Bd. **1**, S. 213 (1909).

[4]) *A. Nestler*, Ein einfaches Verfahren des Nachweises von Theïn und seine praktische Anwendung. Zeitschr. f. Untersuchg. d. Nahr. u. Genußm. Bd. **4**, S. 289 (1901). — Derselbe, Nachweis von extrahiertem Tee durch Sublimation. Ebenda. Bd. **5**, S. 245 (1902). — Derselbe, Praktische Anwendung der Sublimation. Ebenda. Bd. **6**, S. 408 (1903). — Vgl. Chem. Zentralbl. 1901, I, S. 1066; 1902, I, S. 1073; 1903, I, S. 1431.

[5]) *P. Kley*, Mikrochemische Untersuchung des Tees und einige Betrachtungen über das Kaffeïn. Rec. trav. chim. Pays-Bas. T. **20**, p. 344 (1901); Chem. Zentralbl. 1901, II, S. 1275.

[6]) *L. Frank*, Praktische Anwendungen der Sublimation. Zeitschr. f. Untersuchg. d. Nahr- u. Genußm. Bd. **6**, S. 880 (1903); Chem. Zentralbl. 1903, II, S. 1138. — Vgl.: *R. Kempf*, Über das Theïn im Tee und seine Sublimierbarkeit. Archiv f. d. Gesch. d. Naturwissenschaften u. d. Technik. Bd. **1**, S. 213 (1909).

[7]) *J. Burmann*, Genaue Methode zur Bestimmung des Kaffeïns in Tee, grünem und geröstetem Kaffee. Bull. Soc. Chim. de France. [4], T. **7**/8, p. 239 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 380 (1910).

[8]) *A. Straub*, Über den Nachweis von Tee im Kognak. Pharm. Zentralbl. Bd. **51**, S. 701 (1910); Chem.-Ztg. Bd. **34**, Rep. S. 454 (1910).

loiden sind bewährte Methoden ausgearbeitet worden.[1] — Auf die Sublimation von Naphthalin[2]) (in der Technik), von metallischem Radium[3]) und von Radiumbromid[4]) sei hier nur hingewiesen.[5])

a) Sublimieren bei gewöhnlichem Druck. (S. 171—172.)

Ein einfacher Sublimationsapparat mit Wasserkühlung wurde von *Philippe*[6]) hauptsächlich für analytische Zwecke vorgeschlagen. Er besteht aus einer Nickelblechkapsel, die mittelst dreier Spiralfederhaken auf die konvexe Seite eines Uhrglases aufmontiert ist; durch einen Gummiring wird die Dichtung bewirkt. Der Deckel der Kapsel trägt zwei Rohre für Zu- und Abfluß von Kühlwasser. Dieser Apparat wird auf eine flache Glasschale gesetzt, in der sich der zu sublimierende Körper befindet. Beim Erhitzen setzt sich das Sublimat auf dem Uhrglase ab und kann direkt gewogen werden.

Fig. 333.

Sublimationsapparat nach *Wright*.

Ein ähnlicher einfacher Sublimationsapparat in Gestalt eines Vakuumexsikkators wurde von *Michel*[7]) angegeben, ferner ein Apparat mit Wasserkühlung von *Prins*.[8])

Ähnlich dem Prinzip der „destillatio per descensum" (vgl. oben S. 739) ist der in Fig. 333 abgebildete Sublimationsapparat konstruiert[9]): Durch den durchbohrten Stopfen einer schmalen Glasglocke wird der Hals einer kurzabgesprengten Retorte gesteckt, in der sich das Sublimationsgut befindet, und das Ganze über ein Uhrglas oder Porzellanschälchen gestülpt. Bei langsamem Erhitzen der Retorte sammelt sich das Sublimat in der Schale, bei raschem schlägt es sich an den Wänden der Glasglocke nieder. Benutzt man eine Glocke mit seitlichem Tubus und eine aufgeschliffene Unterlage, so kann man die Sublimation auch bei Minderdruck vornehmen.

b) Sublimieren bei Minderdruck. (S. 172—175.)

Zum raschen Sublimieren von schwer flüchtigen Substanzen bei Minderdruck und gleichzeitig im Gasstrom dient die beistehend abgebildete Vor-

[1]) Vgl. z. B.: *R. Eder*, Über die Mikrosublimation von Alkaloiden im luftverdünnten Raum. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 1207 (1912).

[2]) Vgl. z. B.: *A. Rispler*, Die Großindustrie des Steinkohlenteers: Naphtalinfabrikation. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 749 (1910).

[3]) Frau *P. Curie* und *A. Debierne*, Über das metallische Radium. Chem.-Ztg. Bd. **34**, S. 969 (1910). — *A. S. Russel*, Die Flüchtigkeit von Radium C, Philos. Magazine [6], Bd. **24**, S. 134 (1912); C. 1912, II, 1004.

[4]) *A. Stock* und *H. Heynemann*, Die Flüchtigkeit der Bromide des Radiums, Baryums, Strontiums und Kalziums. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **42**, S. 4088 (1909).

[5]) Vgl. im übrigen: *R. Kempf*, Praktische Studien über Vakuumsublimation. Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. **78**, S. 225 ff. (1908).

[6]) *E. Philippe*, Ein neuer Sublimierapparat und einige damit gemachte Erfahrungen. Mitt. Lebensm. Hyg. Schweiz. Gesdh. Bd. **3**, S. 41 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 353 (1912).

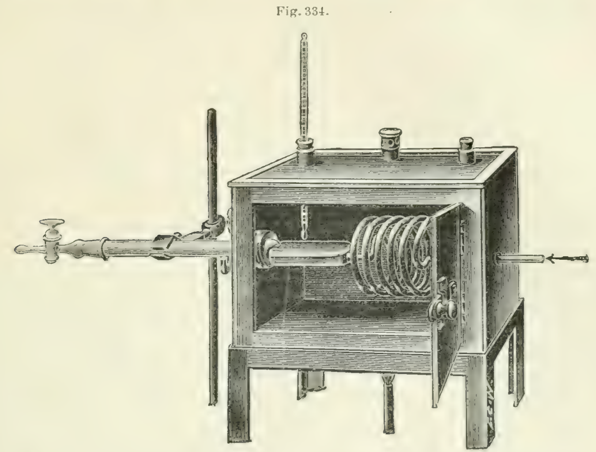
[7]) *F. Michel*, Universalapparat. Chem.-Ztg. Bd. **36**, S. 138 (1912).

[8]) *H. J. Prins*, Vakuumsublimierapparat. Chemisch Weekblad, Bd. **9**, S. 343 (1912); Chem. Zentralbl. 1912, I, S. 1942.

[9]) *R. Wright*, Einfacher Sublimationsapparat. Chem. News. Vol. **103**, p. 138 (1911); Chem.-Ztg. Bd. **35**, Rep. S. 161 (1911).

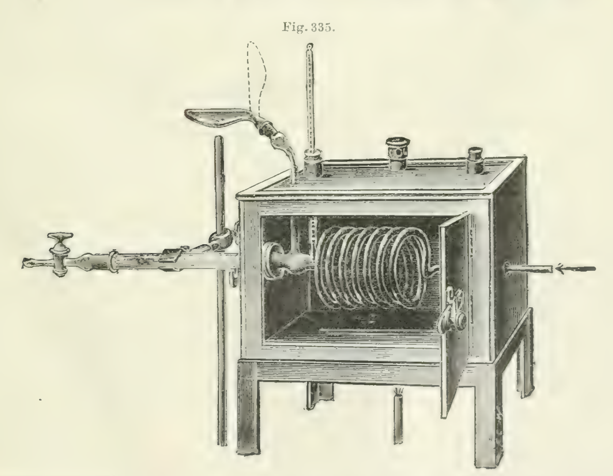
richtung[1]) (Fig. 334). Auf der einen Seite (am Hahnrohr) wird der Apparat mit einer gut wirkenden Luftpumpe verbunden, auf der anderen Seite mit einer Waschflasche, die zugleich zum Trocknen oder Reinigen des Gases

Fig. 334.



Apparat für Sublimationen im Vakuum oder im vorgewärmten Gasstrom nach *Kempf.*

Fig. 335.



Apparat für Sublimationen leicht zersetzlicher Substanzen im Vakuum oder im vorgewärmten Gasstrom nach *Kempf.*

[1]) *R. Kempf,* bisher noch nicht veröffentlicht. — Der Apparat ist von den „Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf“, Berlin N. 39, zu beziehen.

und als Blasenzähler dient. Der Gasstrom, dessen Stärke an der Waschflasche durch ein Schlauchstück mit Quetschhahn beliebig reguliert werden kann, wird in der Glasrohrspirale im Innern des Luftbades zunächst vorgewärmt und streicht dann über das in dem dosenförmigen Teil des Apparates flach ausgebreitete, fein gepulverte Sublimationsgut. Das Sublimat setzt sich in dem horizontalen Rohr außerhalb des Luftbades ab. In Anbetracht dessen, daß sich die Gasblasen im Vakuum beträchtlich vergrößern, wird die Stärke des Gasstroms (Luft, Wasserstoff, Kohlendioxyd od. dgl.) so gering gewählt, daß der Druck im Apparat durch die fortdauernd tätige Pumpe wie bei der gewöhnlichen Vakuumdestillation nahe dem Minimumdruck gehalten wird, den die Pumpe überhaupt zu erzeugen imstande ist. Abgesehen von dem Vorzug eines guten Vakuums wird auf diese Weise auch ein mechanisches Hinüberstäuben von Substanz in die Vorlage leicht vermieden, ohne daß eine Packung von Glaswolle oder Asbestfasern eingelegt zu werden braucht. Die Schliffverbindung zwischen der röhrenförmigen Vorlage und dem dosenförmigen Heizraum ist als Flansch ausgebildet, so daß ein Festbacken des Schliffes völlig ausgeschlossen ist.[1])

Zur Sublimation wärmeempfindlicher, leicht zersetzlicher Substanzen wurde eine Modifikation dieses Apparates (Fig. 335) vorgeschlagen.[2]) Da der Sublimationsvorgang häufig nicht ein Sieden, sondern nur ein Verdunsten fester Stoffe darstellt und mithin nur sehr langsam verläuft, wird in den gewöhnlichen Sublimationsapparaten das zu sublimierende Material unnötig lange der hohen Temperatur des Heizraumes ausgesetzt, ein Umstand, der vielen gegen Hitze empfindlichen Produkten verhängnisvoll wird. In dem neuen Apparat ruht die Substanz zunächst in dem fingerförmigen, oberhalb des Luftbades befindlichen Teil, der mit Hilfe eines Schliffs aus seiner horizontalen Lage in die vertikale (punktiert gezeichnete) Stellung emporgedreht werden kann. Durch vorsichtiges Aufwärtsdrehen dieses Rohres befördert man das Sublimationsgut nach und nach in dem Maße, wie die Substanz übersublimiert, in kleinen Portionen in den Heizraum, der daher nach Bedarf stets nur mit ganz geringen Substanzmengen beschickt ist. Auf diese Weise ist es erreicht, daß sich während der Sublimation die große Hauptmenge des Materials im Kühlen befindet, nämlich entweder vor oder hinter dem Heizraum. Der Zersetzung wärmeempfindlicher Stoffe, welche bei lang andauernder Hitzewirkung sonst unfehlbar nach einiger Zeit eintritt und, einmal begonnen, sich bald durch die ganze Masse hindurch fortsetzt, ist hierdurch weitgehend vorgebeugt.

Bezüglich einiger anderer Sublimationsapparate, die ein Sublimieren bei Minderdruck im Gasstrom gestatten, sei auf die Literatur verwiesen.[3])

[1]) Siehe im übrigen: *R. Kempf,* Praktische Studien über Vakuumsublimation. Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. 78, S. 201 ff. (1908).

[2]) Vgl. Note 1 auf S. 769.

[3]) Siehe z. B.: *E. Diepolder,* Sublimationsapparat. Chem.-Ztg. Bd. **35**, S. 4 (1911). *H. Christopher,* Ein einfacher Vakuum-Sublimationsapparat. Chem.-Ztg. Bd. 35, S. 1325 (1911). — *W. Morey,* Ein neuer Apparat für Vakuumsublimation. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. **34**, p. 550 (1912); Chem.-Ztg. Bd. **36**, Rep. S. 389 (1912).

Register.

Die beigedruckten Ziffern bedeuten die Seitenzahlen.

B.

C.

D.

E.

F.

G.

H.

L.

M.

N.

O.

P.

Q.

R.

S.

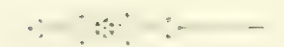
T.

U.

V.

W.

Z.



Druck von Gottlieb Gistel & Cie., Wien, III., Münzgasse 6.







